



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**"EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DE
Drymariaovata, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia*Lag. EN RATAS
(*Rattusnorvegicus*) CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA."**

TESIS DE GRADO
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:
MARÍA JOSÉ REYES PAZMIÑO

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

AGRADECIMIENTO

Expreso mi más sincero agradecimiento primeramente a Dios por haberme provisto de fuerza, temple, sabiduría y ser mi principal guía, ya que sin él no hubiese podido salir adelante, a mis padres quienes confiaron en mí y de igual manera a mis hermanos, sobrinos y cuñados; también a mi tutora Dra. Cumandá Játiva, a mi colaborador del proyecto BQF. Germán Toapanta y al Dr. Carlos Pilamunga; quienes con su paciencia, carisma humana, dedicación y empeño supieron impartir valiosos conocimientos, inculcándome a investigar para de ésta manera poder aportar con algo a la sociedad, y además a todas las personas quienes colaboraron de una u otra forma e hicieron posible la culminación de éste preciado trabajo.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico con mucho cariño a Dios quien ha estado conmigo y siempre lo estará; a mis padres quienes me han dado todo su amor, supieron guiarme con sabiduría para que pueda salir adelante en este proyecto, me enseñaron a diferenciar lo bueno de lo malo; a mi hermano, hermana, sobrinos, sobrinas, cuñada y cuñado quienes de una u otra forma fueron mi apoyo incondicional en momentos difíciles; a una persona especial en mi vida, que fue mi apoyo incondicional en toda mi carrera y por el cual no abandoné mi sueño; a mis amigas que me dieron aliento en momentos que sentía desfallecer; y a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para que pudiera alcanzar una meta más.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que el trabajo de investigación: "EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DE *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia*Lag. EN RATAS (*Rattusnorvegicus*) CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA"de responsabilidad de la Señorita María José Reyes Pazmiño, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizado su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez DECANO FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Iván Ramos DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
Dra. Cumandá Játiva DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
BQF. Germán Toapanta MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
NOTA DE TESIS	-----	

“Yo, María José Reyes Pazmiño, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenecen a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

MARÍA JOSÉ REYES PAZMIÑO

ÍNDICES DE ABREVIATURAS

a. C.	Antes de Cristo
ADA	Asociación Americana de Diabetes
°C	Grados Centígrados
cm	Centímetros
dl	Decilitros
DM	Diabetes Mellitus
<i>D o</i>	<i>Drymariaovata</i>
FeCl ₃	Cloruro Férrico
g	Gramos
G	Galgas
Glu	Glucemia
HDL	High densitylipoprotein (Lipoproteínas de alta densidad)
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
i.p.	Intra peritoneal
Kg	Kilogramos
l	Litro
LDL	Lowdensitylipoprotein (Lipoproteínas de baja densidad)
M	Molar
m	Metros
mg	Miligramos
mm	Milímetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por Millón
rpm	Revoluciones por Minuto
snm	Sobre el nivel del Mar
<i>Sm</i>	<i>Sennamacrophylla</i>
<i>Tf</i>	<i>TagetesfilifoliaLag.</i>
VLDL	VeryLowdensitylipoprotein(Lipoproteínas de muy baja densidad)

ÍNDICE GENERAL

1.	MARCO TEÓRICO	- 1 -
1.1.	MEDICINA NATURAL.....	- 1 -
1.2.	MEDICINA TRADICIONAL EN ECUADOR.....	- 2 -
1.3.	FITOTERAPIA	- 3 -
1.3.1.	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	- 5 -
1.3.1.1.	MACERACIÓN	- 5 -
1.3.1.2.	CONSERVACIÓN DE LOS MACERADOS.....	- 6 -
1.3.2.	PREPARACIÓN FITOTERAPÉUTICOS	- 7 -
1.3.2.1.	EXTRACTOS.....	- 7 -
1.4.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	- 8 -
1.4.1.	FUNDAMENTO.....	- 9 -
1.5.	FICHA TÉCNICA DE <i>Drymariaovata</i>	- 10 -
1.5.1.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	- 10 -
1.5.2.	TAXONOMÍA	- 10 -
1.5.3.	USOS.....	- 11 -
1.6.	FICHA TÉCNICA DE <i>Sennamacrophylla</i>	- 11 -
1.6.1.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	- 12 -
1.6.2.	TAXONOMÍA	- 12 -
1.7.	FICHA TÉCNICA DE ANISILLO (<i>TagetesfilifoliaLag.</i>)	- 13 -
1.7.1.	BOTÁNICA Y ECOLOGÍA.....	- 13 -
1.7.2.	NOMBRES COMUNES.....	- 13 -
1.7.3.	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	- 13 -
1.7.4.	TAXONOMÍA	- 14 -
1.7.5.	QUÍMICA.....	- 14 -
1.7.6.	ETNOBOTÁNICA Y ANTROPOLOGÍA.....	- 14 -
1.8.	DIABETES MELLITUS.....	- 15 -
1.8.1.	DEFINICIÓN	- 16 -

1.8.2.	CLASIFICACIÓN	- 17 -
1.8.2.1.	DIABETES MELLITUS TIPO 1:	- 17 -
1.8.2.2.	DIABETES MELLITUS TIPO 2:	- 17 -
1.8.2.3.	DIABETES GESTACIONAL.....	- 18 -
1.8.2.4.	OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES.....	- 18 -
1.8.3.	INTOLERANCIA A LA GLUCOSA Y GLUCEMIA DE AYUNO ALTERADO	- 18 -
1.8.4.	SÍNTOMAS DE LA HIPERGLUCEMIA	- 20 -
1.8.4.1.	POLIURIA.....	- 20 -
1.8.4.2.	POLIDIPSIA.....	- 20 -
1.8.4.3.	POLIFAGIA.....	- 20 -
1.8.4.4.	ASTENIA	- 20 -
1.8.4.5.	PÉRDIDA DE PESO.....	- 21 -
1.8.5.	DIAGNÓSTICO.....	- 21 -
1.8.6.	PATOGENIA	- 22 -
1.8.7.	PREVALENCIA.....	- 23 -
1.8.8.	ALTERACIONES PROVOCADAS POR LA FALTA DE INSULINA	- 24 -
1.8.9.	TRATAMIENTO	- 25 -
1.8.9.1.	NUTRICIÓN.....	- 25 -
1.8.9.2.	EJERCICIO.....	- 25 -
1.8.9.3.	SUBSTANCIAS HIPOGLUCEMIANTES.....	- 26 -
1.8.10.	METABOLISMO GLUCOLÍTICO	- 30 -
1.8.10.1.	ETAPAS DE LA GLUCOLISIS.....	- 31 -
1.8.10.2.	BIOSÍNTESIS DE LA INSULINA	- 36 -
1.9.	FASES DE ESTUDIOS	- 37 -
1.9.1.	FASE 0 O PRECLÍNICA	- 38 -
1.9.2.	FASE CLÍNICA	- 38 -
1.9.2.1.	FASE I	- 38 -
1.9.2.2.	FASE II	- 39 -
1.9.2.3.	FASE III	- 39 -

1.9.2.4.	FASE IV Ó POSCOMERCIALIZACIÓN	- 40 -
1.10.	ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	- 41 -
1.10.1.	PROCEDENCIA.....	- 43 -
1.10.2.	MANIPULACIÓN.....	- 43 -
1.10.3.	VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	- 44 -
1.10.3.1.	VÍA ORAL.....	- 44 -
1.10.3.2.	VÍA INTRAVENOSA	- 45 -
1.10.3.3.	VÍA INTRA-ARTERIAL	- 45 -
1.10.3.4.	VÍA INTRAMUSCULAR.....	- 45 -
1.10.3.5.	VÍA INTRAPERITONEAL	- 46 -
1.10.3.6.	VÍA INTRADÉRMICA	- 46 -
1.10.4.	TÉCNICAS PARA LA EXTRACCIÓN DE SANGRE	- 46 -
1.10.5.	VÍAS DE EXTRACCIÓN DE SANGRE	- 48 -
1.10.5.1.	VENAS Y ARTERIAS CAUDALES.....	- 48 -
1.10.5.2.	PUNCIÓN CARDÍACA	- 48 -
1.10.5.3.	SENO RETRO-ORBITAL	- 49 -
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	- 50 -
2.1.	LUGAR DE INVESTIGACIÓN.....	- 50 -
2.2.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	- 51 -
2.2.1.	MATERIA PRIMA.....	- 51 -
2.2.2.	MATERIAL BIOLÓGICO	- 51 -
2.2.4.	MATERIALES DE LABORATORIO.....	- 52 -
2.2.5.	REACTIVOS	- 53 -
2.3.	MÉTODOS.....	- 54 -
2.3.1.	FASE EXPERIMENTAL.....	- 54 -
2.3.1.1.	COMPROBACIÓN TAXONÓMICA E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA-	54
	-	
2.3.1.2.	LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	- 54 -
2.3.1.3.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	- 55 -
2.3.1.4.	ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS.....	- 55 -

2.3.1.5.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	- 58 -
2.3.1.6.	INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN RATAS	- 61 -
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 67 -
3.1.	COMPROBACIÓN TAXONÓMICA E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA..	- 67 -
3.2.	PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	- 67 -
3.3.	ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS	- 67 -
3.3.1.	DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS	- 67 -
3.4.	INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN RATAS	- 70 -
3.5.	ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO	- 83 -
3.5.2.	COMPRACIÓN DE GLUCEMIAS ENTRE GRUPOS DE ESTUDIO	- 86 -
4.	CONCLUSIONES	- 89 -
5.	RECOMENDACIONES.....	- 92 -
6.	RESUMEN	- 93 -
7.	BIBLIOGRAFÍA	- 96 -

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1.	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE <i>Drymariaovata</i> , <i>Sennamacrophylla</i> , <i>Tagetesfilifolia</i> Lag.....	- 68 -
CUADRO N° 2.	RESULTADOS DE COMPUESTOS PRESENTES EN EXTRACTOS ETANÓLICOS DE <i>Drymariaovata</i> , <i>Sennamacrophylla</i> , <i>Tagetesfilifolia</i> Lag.....	- 69 -
CUADRO N° 3.	VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.....	- 70 -
CUADRO N° 4.	MEDIAS DE VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.	- 71 -
CUADRO N° 5.	VALORES DESCRIPTIVOS DE LA GLUCEMIA EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.	- 72 -
CUADRO N° 6.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE GLUCEMIA EN EL GRUPO CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 1 (<i>D o</i>) EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.....	- 73 -
CUADRO N° 7.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE GLUCEMIA EN EL GRUPO CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 2 (<i>S m</i>) EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.....	- 73 -
CUADRO N° 8.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE GLUCEMIA EN EL GRUPO CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 3 (<i>T f</i>) EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.....	- 74 -
CUADRO N° 9.	COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDICIONES DE GLUCEMIA EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA CONHSD de Tukey.....	- 74 -
CUADRO N° 10.	RESULTADOS DE LOS VALORES DE PESO DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.....	- 77 -

CUADRO N° 11. MEDIAS DE LOS VALORES DE PESO DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.....	- 78 -
CUADRO N° 12. VALORES DESCRIPTIVOS DEL PESO FINAL EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.	- 79 -
CUADRO N° 13. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE PESOS FINALES EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.	- 80 -
CUADRO N° 14. COMPARACIONES MÚLTIPLES DE PESOS EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA CONHSD de Tukey. ...	- 80 -
CUADRO N° 15. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO CONTROL POSITIVO.....	- 83 -
CUADRO N° 16. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO.....	- 83 -
CUADRO N° 17. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO BLANCO.....	- 84 -
CUADRO N° 18. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO TRATAMIENTO 1 (<i>D o</i>).	- 84 -
CUADRO N° 19. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO TRATAMIENTO 2 (<i>S m</i>).....	- 85 -
CUADRO N° 20. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO TRATAMIENTO 3 (<i>T f</i>).....	- 85 -

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° I. PRINCIPALES DIFERENCIAS ENTRE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y 2.....	- 19 -
TABLA N° II. PATOGENIA DE LAS DIABETES MELLITUS PRIMARIAS....	- 23 -
TABLA N° III. DROGAS HIPOGLUCEMIANTES ORALES.....	- 27 -
TABLA N° IV. TIPOS DE INSULINAS Y ANÁLOGOS.....	- 29 -

ÍNDICE DE IMÁGENES ILUSTRATIVAS

IMAGEN ILUSTRATIVA N°1: <i>Drymariaovata</i>	- 10 -
IMAGENES ILUSTRATIVAS N°2 y 3: <i>Sennamacrophylla</i>	- 11 -
IMAGEN ILUSTRATIVA N°4: <i>Tagetesfilifolia</i> Lag.	- 13 -
IMAGEN ILUSTRATIVA N°5: ESQUEMA DE LA GLICÓLISIS	- 37 -
IMAGEN ILUSTRATIVA N°6: BIOSÍNTESIS DE LA INSULINA.....	- 37 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°1. INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA EN RATAS.....	- 71 -
GRÁFICO N°2. AUMENTO DE PESO EN GRAMOS DURANTE LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.	- 78 -
GRÁFICO N°3: GLUCEMIA EN (mg/dl) DEL GRUPO CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 1.	- 86 -
GRÁFICO N°4: GLUCEMIA EN (mg/dl) DEL GRUPO CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 2.	- 87 -
GRÁFICO N°5: GLUCEMIA EN (mg/dl) DEL GRUPO CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 3.	- 88 -

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍAS N° 1 Y 2: RECOLECCIÓN DE LOS VEGETALES.....	- 105 -
FOTOGRAFÍA N° 3: MACERACIÓN DE LOS VEGETALES	- 105 -
FOTOGRAFÍAS N° 4 Y 5: OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS	- 106 -
FOTOGRAFÍAS N° 6, 7 Y 8: ENSAYO DE ESPUMA, CLORURO FÉRRICO Y BALJET DEL VEGETAL <i>Drymariaovata</i>	- 106 -
FOTOGRAFÍAS N° 9, 10 Y 11: ENSAYO DE SUDAN III Y SHINODA DEL VEGETAL <i>Drymariaovata</i>	- 106 -
FOTOGRAFÍA N° 12: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL VEGETAL <i>Drymariaovata</i>	- 107 -
FOTOGRAFÍA N° 13: ACONDICIONAMIENTO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EN EL ÁREA DE CUARENTENA.....	- 107 -
FOTOGRAFÍA N° 14: MATERIALES A UTILIZAR EN EL EXPERIMENTO....	- 108 -
FOTOGRAFÍA N° 15: PREPARACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE METFORMINA CLORHIDRATO Y SOLUCIÓN DE GLUCOSA AL 60% ..	- 108 -
FOTOGRAFÍA N° 16: TOMA DE PESOS DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	- 108 -
FOTOGRAFÍAS N° 17 Y 18: TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE DE LA COLA DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	- 109 -
FOTOGRAFÍA N° 19: MEDIDOR DE GLUCEMIA ONETOUCH DE ROCHE .	- 109 -
FOTOGRAFÍA N° 20: INMOVILIZACIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN PARA LA POSTERIOR ADMINISTRACIÓN DE GLUCOSA AL 60% Y DE LOS TRATAMIENTOS	- 109 -
FOTOGRAFÍA N° 21: ADMINISTRACIÓN VÍA ORAL DEL TRATAMIENTO..	- 110 -

INTRODUCCIÓN

Para comprobar la actividad hipoglucemiante se produce una hiperglucemia o diabetes experimental en el animal a través de la administración de una descarga de solución de glucosa al 60%. Se consideró el estudio del efecto hipoglucemiante de *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia*Lag. debido a que ya se realizaron otros estudios para comprobar otras actividades como son el efecto antimicrobiano. Considerando que la Diabetes es una de las causas que preocupa al Ecuador por su alto índice de mortalidad; se estima la necesidad de buscar una alternativa que ayude a mejorar la calidad de vida de las personas que poseen esta patología.

Esta investigación tiene como objetivo preparar extractos de *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia*Lag., para administrarlos en animales de experimentación (*Rattusnorvegicus*) con hiperglucemia inducida; de ésta forma evaluar la actividad de los diferentes extractos en relación con el grupo control positivo al que se le administró Metformina Clorhidrato.

Otro objetivo es comprobar el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia*Lag. en ratas (*Rattusnorvegicus*) con hiperglucemia inducida, mediante el estudio realizado en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en los extractos de los vegetales mencionados anteriormente, utilizando animales de

experimentación(*Rattusnorvegicus*) con hiperglucemia inducida por medio de la administración de una solución de glucosa al 60%, evaluacionesdel contenido de glucosa en sangre de los animales de experimentación antes, durante y después del tratamiento mediante punción del extremo de la cola usando el medidor de Glucemia ONETOUCH de Roche.

Finalmente realizar el análisis estadístico con el test de ANOVA y el método de TUKEY con los datos de glucemia, para de éste modo comprobar cuál de los tres extractos es el que mejor actividad hipoglucemiante presenta, concluyendo que el extracto de *Sennamacrophylla* logra reducir de mejor manera los niveles de glucosa en sangre en relación con los otros extractos.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. MEDICINA NATURAL

La Medicina Tradicional y Natural se define como un conjunto de conocimientos y procedimientos técnicos, destinados al diagnóstico y la curación de enfermedades, así como el mantenimiento y fortalecimiento de la salud, teniendo en cuenta los sistemas médicos tradicionales y las influencias que ejerce la naturaleza en los organismos vivos. Tiene sus antecedentes en la Edad de Piedra, cuando los hombres crearon diversos instrumentos, entre ellos el cuchillo de piedra, los que junto al empleo de diversos tipos de plantas, se ponían en función de la cura de disímiles enfermedades, y en la satisfacción de necesidades alimenticias. Tiene su base fundamental en la Medicina tradicional China, y son sus preceptos los que más se incorporan a las teorías establecidas en ella; dispone de variadas técnicas para prever, diagnosticar y tratar enfermedades, todas ellas tienen como objetivo común mantener o restablecer la salud. Ésta medicina surgió hace aproximadamente 5000 años, siendo China su "cuna" y teniendo la influencia de tres movimientos filosóficos: el Budismo, el Confucionismo y el Taoísmo, lo que ofrece a la medicina una extraordinaria riqueza. ⁽⁴⁾

La Medicina Natural o Ciencia de la Salud nació con el hombre y fue practicada por los sacerdotes egipcios y caldeos. También la cultivaron los filósofos de la antigüedad. Hipócrates formuló las reglas del verdadero arte de cura, cuya clave, expresada en su clásica frase *natura medicatrix*, o sea "la Naturaleza es la que cura", ha sido olvidada por los profesionales con su actuación antinatural que conduce a la dependencia de los fármacos y la mutilación del cuerpo. La acción tóxica de los venenos farmacéuticos es el agente que deprime y anula la fuerza curativa natural que posee todo organismo, llegando a paralizarla hasta impedir toda reacción salvadora. La medicina de la naturaleza es parte de la Ley de la Vida y constantemente colabora al bienestar del hombre. Por eso nuestro organismo siempre tiende a la salud. Defiende siempre la salud y la vida. Para la medicina de la naturaleza todo síntoma representa una actividad defensiva y salvadora del organismo. ⁽⁹⁾

1.2. MEDICINA TRADICIONAL EN ECUADOR

La Medicina Tradicional Andina que es parte de la cultura quichua, que busca no alterar el orden natural. Es autóctona, ha sido transmitida por tradición y por lo tanto no se ha llegado a sistematizarla todavía, utiliza fundamentalmente productos caseros y la persuasión en el tratamiento, depende y sirve a la comunidad, por lo que es más accesible a cualquier persona. Ésta medicina es fruto de las necesidades de salud propias y cambiantes de la sociedad andina, transmitida fundamentalmente de padres a hijos y que emplea recursos curativos de fácil acceso. Pero como la clase social dominante no ha sido autóctona, esta medicina no tiene ningún respaldo legal ni académico, aunque es la más utilizada en nuestro país. ⁽³⁾

Considera que el fundamento curativo de las plantas medicinales está en el espíritu o esencia. La mayoría de los curanderos son innovadores, personas curiosas que tratan con ansiedad de completar sus conocimientos. De esta

manera se encuentran, en la medicina popular andina, cada vez más métodos y técnicas provenientes de otras regiones. Las plantas medicinales, son productos naturales que no tienen secretos de fábrica y una gran mayoría de los pobladores andinos las siguen utilizando. ^{(15) (11)}

La presencia del hombre en lo que hoy es el territorio ecuatoriano se remonta hace 11.100 años a. C. en el sitio del Inga Provincia de Pichincha, con muy pocos datos respecto a su actividad y menos en lo referente a la medicina. Un largo período formativo se presenta hasta la llegada y conquista de los incas con numerosas poblaciones que conforman el desarrollo regional, caracterizado en el campo médico por procesos de empirismo, magia y sometimiento a las fuerzas sobrenaturales. ⁽⁸⁾

La figura central de la medicina era el Shamán o brujo quien tenía además don de mando civil y religioso, y era el que practicaba la medicina a base de un rito, entrando en trance a base de plantas alucinógenas. Durante los primeros años de la colonia española no se disponían sino de una precaria medicina traída por ellos, siendo más importante la influencia de nuestra medicina aborígen que la traída por los españoles. No llegaron médicos con los primeros conquistadores y quienes practicaban la medicina eran los monjes, ayudados por los curanderos aborígenes y gente hábil voluntaria. ⁽⁸⁾

1.3. FITOTERAPIA

Es la ciencia del tratamiento de las enfermedades con plantas medicinales, basada tanto en la investigación como en la experiencia. Es importante tener presente que la definición de planta o hierba medicinal podría formularse como "todo vegetal que, conteniendo uno o varios principios activos, es capaz de aliviar o curar determinadas enfermedades". El arsenal terapéutico moderno se nutre, en buena parte, de los principios activos de las plantas, ya sean aislados de ellas

mismas u obtenidos por síntesis en el laboratorio. La ventaja del empleo de hierbas es que, junto a sus principios activos existen en muchos casos -y ésta es una maravilla de la Naturaleza- constituyentes de acción sinérgica que potencian su acción y los hacen más completos y duraderos que el o los principios activos aislados. La Fitoterapia es una forma de curar en el ámbito de las denominadas medicinas alternativas. ⁽¹²⁾

La fitoterapia o tratamiento con plantas es tan antiguo como la propia humanidad, ha servido de base para la farmacología actual, porque de las plantas se obtuvieron los principios activos para las primeras drogas; pero ocurre que cuando estos principios activos se separan y se tamizan, no siempre mantienen las mismas propiedades que puede presentar la planta natural, porque está como un todo, como un sistema, es mucho más que la suma de sus partes. ⁽¹⁾

En el mundo vegetal es frecuente, que sólo una parte de la planta sea en la que radica su actividad farmacológica, y por tanto la que determina que una simple especie botánica adquiera el rango de planta medicinal. Puede tratarse de la raíz, de la corteza, del tronco o de las hojas de un árbol o arbusto. En otras ocasiones la actividad de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta, o en lo que se denomina "sumidad". Se considera como droga a cada una de las partes activas del vegetal, siendo los principios activos aquellas sustancias, de composición química establecida, responsables de la acción farmacológica de las mismas, siendo una buena parte de los casos los verdaderos compuestos utilizados en terapéutica, o al menos los que hacen justificable el empleo de muchas plantas medicinales. ⁽¹⁷⁾

La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales proceden del metabolismo secundario. Se encuentran en las drogas en porcentaje raramente superior al 1%, son por ello moléculas poco abundantes e inmersas en células vegetales junto a otras moléculas, muchas de las cuales

presentan estructuras muy relacionadas. En lo que se refiere estrictamente a la Fitoterapia, la acción farmacológica de una determinada planta medicinal depende en la mayoría de los casos de varios principios activos y no sólo de uno aislado, existiendo sinergismo y acciones coadyuvantes entre ellos, de modo que por lo general resulta más adecuada la acción de toda la planta en su conjunto que la de un determinado compuesto. ⁽¹⁷⁾

1.3.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1.3.1.1. MACERACIÓN

La solución de los principios activos se obtiene en este caso dejando el vegetal seco en contacto con un líquido (agua, alcohol, aceite o vinagre) a cualquier temperatura y en un recipiente cerrado durante el tiempo necesario según el líquido escogido. Para una maceración en agua fría, por ejemplo, alcanza con un reposo de entre 12 y 24 horas. ⁽¹²⁾

Se llama maceración al remojo o baño de una sustancia en un líquido, a temperatura ordinaria, y se aplica casi únicamente para la disolución de los principios solubles de ciertas raíces, hojas, tallos, etc. La maceración se emplea cuando los principios solubles son alterados por el calor, y también para disolver una sustancia que contenga varios principios cuya solubilidad varía con la temperatura, pues los no disueltos en frío quedan sin alterar para ser disueltos después en caliente. ⁽⁵⁾

El modo de hacer la maceración consiste sencillamente en poner juntos el disolvente y el cuerpo que se quiere disolver en una vasija adecuada, dejando ésta en reposo más o menos tiempo, según la clase de cuerpo que se trate. Para las operaciones corrientes, basta con una cacerola de hierro esmaltado provisto

de tapadera. Para las más delicadas se emplean recipientes de cristal. Cuando el disolvente es volátil, se hace uso de un frasco de boca ancha con tapón. ⁽⁵⁾

La maceración consiste en verter un líquido cualquiera sobre un vegetal convenientemente dividido, durante 8 a 10 días, a la temperatura ordinaria y agitando frecuentemente. Al producto se le da el nombre de macerado y según el vehículo o disolvente empleado, la maceración se llama acuosa, alcohólica, etc. Esta forma de disolución extractiva es muy empleada en la preparación de tinturas, extractos, elixires, etc. Y se emplea con vegetales o drogas que contienen principios activos que se descomponen por medio del calor. ⁽⁶⁾

Para macerar los vegetales, deben dividirse previamente: se coloca en un recipiente apropiado la cantidad de material y líquido prescritos, se agita unos 10 minutos y se deja en reposo, agitando después, cada tres horas más o menos durante 8 días. Se supone que en las noches no se agitará; pasado este lapso, se cuela y filtra, se exprime el residuo y se lava con la cantidad suficiente del mismo líquido que se usó para hacer la maceración, hasta obtener la cantidad prescrita. ⁽⁶⁾

El residuo se puede volver a macerar, según su naturaleza o los principios activos que contenga la droga en maceración. Esta segunda maceración puede ser con el mismo vehículo o con otro diferente. El producto obtenido de la maceración o de la doble maceración se deja en reposo 48 horas y se pasa por papel filtro. ⁽⁶⁾

1.3.1.2. CONSERVACIÓN DE LOS MACERADOS

Los macerados pueden conservarse durante bastante tiempo (hasta un mes), especialmente cuando el líquido extractivo utilizado como disolvente es el aceite o el alcohol en lugar del agua. ⁽¹⁴⁾

1.3.2. PREPARACIÓN FITOTERAPÉUTICOS

1.3.2.1. EXTRACTOS

Son fundamentales para aquellas plantas medicinales que no contienen aceites esenciales, pero sí otros compuestos activos con variadas propiedades. En general, se denomina extracción sólido-líquido al procedimiento consistente en poner en contacto un sólido triturado (material vegetal) con un líquido (disolvente de extracción) en el que son solubles algunas de las sustancias que incorporan el sólido en su composición. Del proceso se obtiene un sólido agotado y una disolución o extracto formado por el disolvente y las sustancias disueltas en él. La extracción de vegetales y plantas aromáticas o medicinales es una práctica común a escala doméstica e industrial, existiendo gran cantidad de procedimientos y formas de actuación diferente que sin embargo presentan en común el hecho de que todos son en realidad extracciones sólido-líquidas.⁽¹³⁾

1.3.2.1.1. EXTRACTOS ALCOHÓLICOS

Los extractos de éste tipo se obtienen poniendo a macerar durante algún tiempo (que se recomienda sea de al menos una semana) una cantidad de hierbas con igual peso de alcohol puro (95°). Luego de la maceración, se filtra y se conserva en una botella de vidrio, preferentemente oscuro. La administración de este tipo de preparación se efectúa de a gotas.⁽¹²⁾

Se opera por extracción de la planta (generalmente seca) con una disolución de alcohol en agua del 25-50%. La planta triturada con un tamaño de partícula no muy pequeño se mezcla con la disolución alcohólica y se conserva en un recipiente hermético en lugar fresco y oscuro. El líquido debe cubrir totalmente el vegetal y es recomendable utilizar un recipiente de volumen adecuado para no

dejar cámara de aire en su interior. Periódicamente se agita el recipiente para homogeneizar la mezcla. ⁽¹³⁾

Pasado un tiempo variable según la planta y otros factores (típicamente de 1 a 3 meses, aunque este tiempo puede variar entre límites muy amplios), se cuela y filtra el extracto que se envasa y almacena de forma adecuada. Se trata de una extracción simple en la que el tiempo de extracción depende de la temperatura ambiente, tamaño de la partícula del sólido y agitación, por esto suele dejarse un tiempo suficientemente largo ya que se opera a temperatura ambiente y con escasa agitación. ⁽¹³⁾

1.3.2.1.1.1. FUNDAMENTO DE EXTRACTOS ALCOHÓLICOS

Debido a que en presencia de concentraciones elevadas de alcohol etílico, todos los procesos degradativos y microbiológicos se detienen, se otorga a estas preparaciones una gran estabilidad. Se ha observado que con mezclas de alcohol etílico y agua se obtienen extractos que conservan sus propiedades medicinales durante largo tiempo (llamados en este caso "Extractos Alcohólicos"). Los "extractos alcohólicos" son también conocidos como Tinturas o Tinturas Madres. En el caso de los Extractos, la planta ya ha sido transformada en fitomedicamento mediante un cuidadoso y controlado proceso. De esta forma, en el extracto, todos los componentes de las plantas se encuentran disueltos y disponibles para ser aprovechado rápidamente por nuestro organismo. ⁽³⁰⁾

1.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico o "screening" fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir

de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para aislamiento de los grupos de mayor interés. ⁽¹⁶⁾

El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración. Debe permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados del "screening" farmacológico. La cantidad de material vegetal necesario para hacer las pruebas varía de 5 g a 200 g. ⁽¹⁶⁾

Mediante el tamizaje fitoquímico se separa un principio activo que se utiliza en una dosis conveniente, por lo que se espera un efecto preciso como sucede con los fármacos industriales; sin embargo cuando se utiliza una infusión o una tisana de una raíz o de las hojas de una planta, puede ocurrir que contenga o no un principio activo, con una acción biológica por los efectos bioenergéticos que introduce, en la cual se involucran el color y otras formas de energía que dependen de su patrón de organización y de las propiedades emergentes que posee el sistema como un todo. ⁽¹⁾

1.4.1. FUNDAMENTO

El análisis fitoquímico tiene como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal a estudiar por ejemplo en las plantas medicinales, aplicando para ello una serie de técnicas de extracción, separación y purificación, y de determinación estructural. ⁽²⁰⁾

Se basa en pruebas preliminares sencillas y rápidas que permiten detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos compuestos. Se ayudan de la micro química para evidenciar estos grupos de constituyentes mediante

formación de precipitados, coloraciones, etc. Estas reacciones se caracterizan por ser selectivas para las clases o grupos de compuestos que se investigan, son simples y rápidas, detectan la mínima cantidad posible y utilizan un mínimo de equipo de laboratorio.⁽²³⁾

1.5. FICHA TÉCNICA DE *Drymariaovata*



FUENTE: <http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc/?page=view&id=60550&PHPSESSID=b85>

IMAGEN ILUSTRATIVA N°1: *Drymariaovata*

1.5.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Se lo conoce también como Escama de Pescado, Guarmipoleo. *Drymaria* es un género de plantas con flores con 115 especies. Natural de América, se encuentra desde México a Perú. También en China, India e Indonesia. Son plantas herbáceas caducas o perennes, de poca altura, delicadas y laxas. Las hojas son opuestas y con forma de riñón. Tienen flores blancas y los frutos son cápsulas secas con numerosas semillas.^{(39) (27)}

1.5.2. TAXONOMÍA

REINO: Plantae

FILO: Angiospermae

CLASE: Dicotiledónea

ORDEN: Caryophyllales

FAMILIA: Caryophyllaceae

GÉNERO: *Drymaria*

ESPECIE: *Drymaria ovata*⁽²⁸⁾

1.5.3. USOS

Trata afecciones como bronquitis, asma, inflamación, dolores estomacales.⁽³⁹⁾

1.6. FICHA TÉCNICA DE *Sennamacrophylla*



FUENTE: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/ICN/?controlador=ShowObject&accion=show&id=262928>

IMAGENES ILUSTRATIVAS N°2 y 3: *Sennamacrophylla*

El género *Senna* está compuesto por árboles, arbustos y hierbas de hojas paripinnadas y pecíolos engrosados en su base; flores amarillas o anaranjadas, conspicuas, cáliz con 3-4 lóbulos y corola zigomorfa con 5 pétalos, estambres de 4-10, frutos en legumbre plana o cilíndrica. Consta de unas 350 especies distribuidas en regiones tropicales, de las cuales muchas son usadas como ornamentales. La mayor parte de las especies son arbustos o hierbas, las cuales crecen en sitios abiertos o como malezas en potreros. Una de las especies más abundantes es *Sennamacrophylla*.⁽¹⁸⁾

1.6.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Arbusto de bordes de bosques y cañadas por debajo de los 1800 metros; sus hojas con pinnas grandes, de hasta 15 cm de longitud y con pubescencia suave, son caracteres importantes para su reconocimiento. Son por lo general arbustos de ramas verdes, delgadas y arqueadas, con inflorescencias terminales conspicuas y frutos delgados y cilíndricos que pueden alcanzar los 25 cm. ⁽¹⁸⁾

Conocida también como "Yema de huevo", árbol pequeño que presenta las hojas compuestas pinnadas, con estípulas cetáceas, los dos pares de foliolos ampliamente ovados con una glándula entre el par inferior, pecíolos y pedúnculos de los racimos axilares puberulentos o glabros; foliolos membranáceos, ligeramente lustrosos por la haz, con venación reticulada, oblicuamente redondeada en la base, generalmente 20-30 cm de largo y 10-15 cm de ancho, pedúnculos 1-3 cm de largo; sépalos 6-8 mm de largo, obtusos, los que se secan en color negruzco, pétalos de color amarillo, 16-20 mm de largo, venosos, anteras 7, ovario un poco puberulento, las flores generalmente nacen en los tallos viejos; legumbres 25 cm de largo. ⁽³⁾

1.6.2. TAXONOMÍA

Nombre científico: *Sennamacrophyllavar. macrophylla*

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae (Leguminosae)

Sub familia: Caesalpinioideae

Género: Senna

Epitelio Específico: macrophylla ⁽³⁾ ⁽⁴⁴⁾

1.7. FICHA TÉCNICA DE ANISILLO (*Tagetesfilifolia*Lag.)



FUENTE: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-filifolia/imagenes/habito.jpg>

IMAGEN ILUSTRATIVA N°4: *Tagetesfilifolia*Lag.

1.7.1. BOTÁNICA Y ECOLOGÍA

Hierba anual muy aromática de 10 a 50 cm de altura. Sus hojas semejan listones porque están muy divididas. Las flores están agrupadas en cabezuelas, son amarillas y se encuentran encerradas en unos tubos en las puntas de las ramas, a veces la cabezuela presenta una o dos flores con lengüeta blanca. El fruto es seco y las semillas peludas. ⁽⁴⁵⁾

1.7.2. NOMBRES COMUNES

Anisillo, anís de monte, cirucumín, flor de Santa María, hierba anís, pericón, periquillo y manzanilla. ⁽⁴⁶⁾

1.7.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Originaria de México y Centroamérica. El anís habita en climas cálido, semicálido y templado, entre los 300 y hasta los 2000 m snm. Planta silvestre

que crece a las orillas de caminos, está asociada a bosques tropicales caducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino.⁽⁴⁵⁾

1.7.4. TAXONOMÍA

REINO: Plantae

SUBREINO: Traqueobionta (plantas vasculares)

SUPERDIVISIÓN: Spermatophyta (plantas con semillas)

DIVISIÓN: Magnoliophyta (plantas con flor)

CLASE: Magnoliopsida (dicotiledóneas)

SUBCLASE: Asteridae

ORDEN: Asterales⁽⁴⁶⁾

1.7.5. QUÍMICA

Esta planta contiene un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenoscitral, citrol, limoneno y tagetona; los sesquiterpenos beta-cariofileno, cedreno y alfa-humuleno; y los lignanostransanetol, estragol y el éter metílico de eugenol. En la raíz se han detectado los componentes azufrados 5-(4-acetoxi-1-butenil)-2-2'-bitienilo, 5-(but-3-en-1-inil) 2-2'-bitienilo y alfa-tertienilo.⁽⁴⁵⁾

1.7.6. ETNOBOTÁNICA Y ANTROPOLOGÍA

Se utiliza para té, también tiene un uso medicinal, forrajero y comestible. Se recurre a las propiedades medicinales del anís principalmente cuando hay dolor de estómago. Así, en Veracruz, Guerrero y Michoacán sugieren tomar un té de esta planta cuando se presenta el dolor. Mientras en Oaxaca recomiendan beber un poco del alcohol donde se maceraron las hojas, y en Hidalgo y Chiapas, usar la infusión de la hoja o del tallo, tiernos. En Morelos, aconsejan ingerir caliente la

cocción de la parte aérea, antes de cada alimento o administrado tres veces al día a los niños cuando tienen cólicos. ^{(45) (46)}

Además, esta infusión se puede emplear sola o combinada con hojas de mesté (*Baccharisvaccinoides*), con una clase de mirasol (*Tithoniadiversifolia*), cáscara de nance (*Byrsonimacrassifolia*) o con la raíz de guayaba (*Psidiumguineense*) para tratar otros trastornos digestivos como la diarrea. En Sonora sólo se recomienda la hoja para aliviar los malestares estomacales en general. El cocimiento de las hojas o del tallo se usa para los nervios, la debilidad y la tos. Aunque también para la tos y gripa se hace una cocción de las ramas junto con hojas de ítamo real, fruto de guayaba picados y canela (*Cinnamomumzeylanicum*). ^{(45) (46)}

Se recomienda primero poner la canela y cuando esté pintada el agua, agregar lo demás. Antes de dormir se toman dos tazas de té caliente y se cubre bien al enfermo para que sude. La cocción de las hojas suele utilizarse para dar baños en general. Aunque también se aconseja ingerirla o en frotación, con la finalidad de bajar la calentura y quitar escalofríos. Se dice, que las hojas mezcladas con tabaco, sirven para los dolores corporales. Se aconseja su uso en cólico de niños, flatulencia y para eliminar la frialdad; en dolor de cabeza, espasmo, latido y para el aire. ^{(45) (46)}

1.8. DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus es una enfermedad compleja, con diversos elementos fisiopatológicos, que se conjugan para generar complicaciones en la cual la hiperglucemia es su alteración sustancial, como también otras alteraciones metabólicas y moleculares, tiene como denominador común la enfermedad cardiovascular, que usualmente es la causa de la muerte en estos pacientes; y que basa su etiopatogenia en la arterosclerosis y el estado protrombóticoincrementado como fundamento de sus eventos finales; por lo tanto, las

complicaciones inherentes a la arterosclerosis representan alrededor del 80% de la mortalidad asociada al mórbido. Conociendo que en nuestro país la expectativa de vida de las personas, han aumentado a 74 años vemos que ha aumentado el número de pacientes con diabetes. ⁽²⁵⁾

Cuando hablamos de prevención de la diabetes nos estamos refiriendo al tipo 2 de la enfermedad, porque con respecto a la diabetes tipo 1 no es posible prevenirla. La participación de factores de auto inmunidad en la patogénesis de la enfermedad ha anulado, hasta el momento, cualquier posibilidad de acción preventiva de este padecimiento. Contrario a lo que sucede con la diabetes tipo 2, los cambios en el estilo de vida o las intervenciones farmacológicas han contribuido a la posibilidad de prevención de la diabetes tipo 2. ⁽²⁵⁾

La diabetes tipo 2 se ha constituido en una verdadera epidemia y es en la actualidad uno de los dos problemas de salud pública más importantes en todo el mundo. Las cifras ya son bastante conocidas por todos nosotros; los estimativos más recientes sugieren que en el año 2006 ya hubo 200 millones de pacientes con diabetes en el mundo. Si tenemos en cuenta los casos nuevos de “deterioro de la tolerancia a la glucosa”, una afección que se asocia con elevación de la morbilidad y la mortalidad por enfermedad cardiovascular, el cálculo asciende a 314 millones de individuos afectados por diabetes o “deterioro de la tolerancia a la glucosa” en el año 2006. ⁽²⁵⁾

Se cree que para el 2025 va a haber un aumento de 72% en los casos de diabetes, con lo cual se elevará a 333 millones el número de personas afectadas, o 412 millones si tenemos en cuenta también los casos de “intolerancia a la glucosa”. Resulta obvio que estas cifras tengan un gran impacto, en especial cuando se piensa que estos momentos exponenciales tienen lugar de predominio en los países en vías de desarrollo. ⁽²⁵⁾

1.8.1. DEFINICIÓN

La Diabetes Mellitus es un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizado por hiperglucemia crónica con cambios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y las proteínas, resultado de un defecto de la secreción y/o la acción de la insulina, que contribuye al desarrollo de complicaciones macrovasculares, microvasculares y neuropatías. La hiperglucemia crónica se asocia en el largo plazo daño, disfunción e insuficiencia de diferentes órganos especialmente de los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. ⁽³⁸⁾

1.8.2. CLASIFICACIÓN

En 1997 la Asociación Americana de Diabetes (ADA), propuso una clasificación que está vigente. Se incluyen 4 categorías de pacientes y un 5^{to} grupo de individuos que tienen glucemias anormales con alto riesgo de desarrollar diabetes (también tienen mayor riesgo cardiovascular):

1.8.2.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1:

Caracterizada por una destrucción de las células beta pancreáticas, deficiencia absoluta de insulina, tendencia a la cetoacidosis y necesidad de tratamiento con insulina para vivir (insulinodependientes). ⁽²¹⁾

1.8.2.2. DIABETES MELLITUS TIPO 2:

Caracterizada por insulino-resistencia y deficiencia (no absoluta) de insulina. Es un grupo heterogéneo de pacientes, la mayoría obesos y/o con distribución de grasa predominantemente abdominal, con fuerte predisposición genética no bien definida (multigénica). Con niveles de insulina plasmática normal o elevada, sin tendencia a la acidosis, responden a dieta e hipoglucemiantes orales, aunque

muchos con el tiempo requieren de insulina para su control, pero ella no es indispensable para preservar la vida (insulino-requierenes).⁽²¹⁾

1.8.2.3. DIABETES GESTACIONAL

Se caracteriza por hiperglucemia, que aparece en el curso del embarazo. Se asocia a mayor riesgo en el embarazo, parto y de presentar diabetes clínica (60% después de 15 años). La diabetes gestacional puede desaparecer al término del embarazo o persistir como intolerancia a la glucosa o diabetes clínica.⁽²¹⁾

1.8.2.4. OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES

Incluyen pacientes con defectos genéticos en la función de la célula beta como las formas llamadas MODY (maturity-onset diabetes of the young); otros con defectos genéticos de la acción de la insulina; otros con patologías pancreáticas (pancreatectomía, pancreatitis aguda y crónica, neoplasia del páncreas, hemocromatosis); endocrinopatías (Cushing, acromegalia, glucagonoma, feocromocitoma). También algunos fármacos o tóxicos pueden producir diabetes secundaria (corticoides, ácido nicotínico, L-asparagina, interferón alfa, pentamidina); agentes infecciosos (rubeola congénita, citomegalovirus, parotiditis) y por último, algunas otras enfermedades como los Síndromes de Down, Klinefelter, Turner, enfermedad de Stiff-man y Lipoatrofias.⁽²¹⁾

1.8.3. INTOLERANCIA A LA GLUCOSA Y GLUCEMIA DE AYUNO ALTERADO

La intolerancia a la glucosa se caracteriza por una respuesta anormal a una sobrecarga de glucosa suministrada por vía oral. Este estado se asocia a mayor prevalencia de patología cardiovascular y a riesgo de desarrollar diabetes clínica (5-15% por año). Glucemia de ayuno alterado se caracteriza por el hallazgo de una

glucemia de ayuno entre 100 y 125 mg/dl. Su identificación sugiere el realizar una prueba de sobrecarga de glucosa oral, para la clasificación definitiva. ⁽³⁶⁾

TABLA Nº I. PRINCIPALES DIFERENCIAS ENTRE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y 2.

	DM (Tipo 1) INSULINODEPENDIENTE	DM (Tipo 2) NO INSULINODEPENDIENTE
Edad de inicio	Generalmente <30 años	Generalmente >40 años
Presentación clínica	Hiperglucemia aguda, severa; cetonas comunes.	Hiperglucemia ligera
Antecedentes familiares	Raro	Común
Estado nutricional	Normal o bajo peso	Obesos o normales
Síntomas clínicos	Inicio agudo o subagudo	Inicio insidioso o lento
Tendencia a cetoacidosis metabólica	Alta	Solo en estrés
Receptores de insulina	Normales	Variable
Peso corporal	Delgados	Obesos en el 80-90% de los casos.
Nivel insulinemia	Bajo	Normal o alta
Remisión clínica	Breve después del tratamiento	Puede ser prolongada
Objetivo de la dieta	Sincronizar la dosis de insulina y la dieta	Reducción de peso, mantener los niveles de glucosa normal y evitar síntomas
Respuesta terapéutica	Insulino dependencia	Dieta, hipoglucemiantes orales. Insulina (por fracaso a drogas orales).

FUENTE: AMOROSO, A. TORRES, H. (2007). INSULINO RESISTENCIA, PREDIABETES, DIABETES Y RIESGO CARDIOVASCULAR.

1.8.4. SÍNTOMAS DE LA HIPERGLUCEMIA

1.8.4.1. POLIURIA

El aumento exagerado de la diuresis es, quizá, la manifestación clínica más frecuente y precoz. Cuando la hiperglucemia supera el dintel renal para la glucosa (≈ 180 mg/dl), aparece la glucosuria que puede ocasionar pérdidas elevadas de glucosa a través de la orina. Se produce una importante diuresis osmótica (3-4 l/día), con eliminación excesiva de orina de elevada densidad durante el día y la noche. La elevada diuresis nocturna recibe el nombre de nicturia. ⁽⁵¹⁾

1.8.4.2. POLIDIPSIA

El incremento de sed es un mecanismo para contrarrestar la poliuria y evitar la deshidratación. Puede ser que la intensidad de la poliuria y la polidipsia varíe en relación con el nivel de glucemia, como consecuencia de variaciones en el dintel renal para la glucosa, que suele incrementarse con la edad. Este hecho, contribuye a que estos síntomas puedan pasar desapercibidos. ⁽⁵¹⁾

1.8.4.3. POLIFAGIA

El exceso de apetito de los diabéticos es el reflejo de la "hambre" de glucosa que tienen las células y traduce la insuficiente penetración de esta glucosa en los distintos tejidos. Además, la glucosuria implica una pérdida de "energía calórica" en forma de glucosa a través de la orina, que es necesario compensar. ⁽⁵¹⁾

1.8.4.4. ASTENIA

El cansancio es consecuencia de la alteración del metabolismo de la glucosa a nivel de las células musculares. Además de este déficit de "energía glucosa" en el

tejido muscular, el deficiente aprovechamiento de las proteínas y de las grasas, así como la disminución del glucógeno en hígado y músculo, contribuyen al agotamiento progresivo de la persona diabética.⁽⁵¹⁾

1.8.4.5. PÉRDIDA DE PESO

El adelgazamiento es también consecuencia de la pérdida de energía mediada por la glucosuria. Pero además, otras manifestaciones de la falta del efecto anabólico de la insulina en los tejidos como la disminución de la lipogénesis y el aumento de la lipólisis en el tejido adiposo, así como la proteólisis aumentada y la disminución de la síntesis de proteínas, colaboran significativamente en la pérdida de peso del diabético.⁽⁵¹⁾

Además se puede presentar también:

- Piel seca
- Náuseas
- Visión borrosa
- Somnolencia

Por lo general, los síntomas se desarrollan de manera gradual. Sin embargo, no todos experimentarán los síntomas mencionados.⁽³⁵⁾

1.8.5. DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico definitivo de Diabetes Mellitus y otras categorías de la regulación de la glucosa, se usa la determinación de glucosa en plasma o suero. En ayunas de 10 a 12 horas, las glucemias normales son <100 mg/dl.⁽⁴¹⁾

En un test de sobrecarga oral a la glucosa (75 g), las glicemias normales son:

- ❖ **Basal:** < 100 mg/dl
- ❖ **A los 30, 60 y 90 minutos:** < 200 mg/dl
- ❖ **A los 120 minutos:** post sobrecarga < 140 mg/dl

a) Diabetes Mellitus: El paciente debe cumplir con alguno de estos 3 criterios lo que debe ser confirmado en otra oportunidad para asegurar el diagnóstico.

1. Glucemia (en cualquier momento) ≥ 200 mg/dl, asociada a síntomas clásicos (poliuria, polidipsia, baja de peso).
2. Dos o más glucemias ≥ 126 mg/dl.
3. Respuesta a la sobrecarga a la glucosa alterada con una glucemia a los 120 minutos post sobrecarga ≥ 200 mg/dl. ⁽⁴¹⁾

b) Intolerancia a la glucosa: Se diagnostica cuando el sujeto presenta una glucemia de ayuno < 126 mg/dl y a los 120 minutos post sobrecarga oral de glucosa entre 140 y 199 mg/dl. ⁽⁴¹⁾

c) Glucemia de ayuna alterada: Una persona tiene una glucemia de ayunas alterada si tiene valores entre 100 y 125 mg/dl. Será conveniente estudiarla con una sobrecarga oral a la glucosa. ⁽⁴¹⁾

1.8.6. PATOGENIA

El síndrome diabético, aunque tiene hechos comunes es heterogéneo en su patogenia. Más aún, hay diferencias dentro de sus categorías primarias del tipo 1 y 2 en cuanto a factores hereditarios y ambientales que desencadenan el trastorno metabólico. ⁽³⁶⁾

TABLA Nº II.PATOGENIA DE LAS DIABETES MELLITUS PRIMARIAS

	DM tipo 1	DM tipo 2
Asociación a HLA	DR3, DR4, DRA Arg 52, DQB No Arg 57	No
Concordancia gemelos	< 50%	> 90%
Anticuerpos antivirales	Algunos	No
Anticuerpos antinsulares	90%	No
Asociación a obesidad	No	Si
Defecto endócrino	Déficit insulina	Resistencia insulínica + defecto de secreción
Histología islotes	Insulitis Atrofia	Hialinosos Amiloidosis

FUENTE: ARTEAGA, A. MAIZ, A. OLMOS P. y VELAZCO, N. (1997). MANUAL DE DIABETES Y ENFERMEDADES METABÓLICAS.

1.8.7. PREVALENCIA

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que en el mundo hay más de 220 millones de personas con diabetes. Casi el 80% de las muertes por esta enfermedad se produce en países de ingresos bajos o medios. ⁽⁴⁰⁾

En Ecuador, los casos notificados para Diabetes Mellitus (diabetes 2) fueron de 92 629, en 2010. Sin embargo, el número es mucho mayor porque más de la mitad de las personas que la padecen no lo sabe. A ello hay que sumar los enfermos de diabetes 1, cuya cifra total también es desconocida. Según algunos datos, en el Ecuador hay alrededor de 500 mil personas que sufren de diabetes, pero apenas unas 100 mil reciben tratamiento adecuado. ⁽⁴⁰⁾

Frente a esta situación, el Ministerio de Salud Pública realiza un seguimiento y evaluación de pacientes diabéticos, a través de la implementación de clubs de diabéticos, que cuentan con médicos, enfermeras y nutricionistas que brindan atención integral. ⁽⁴⁰⁾

Así mismo, reciben charlas de interés, ejercicio físico y comparten con otras personas que tienen patologías similares. También se entrega la medicación gratuita para todas las personas con diabetes que se atienden en las Unidades del Ministerio de Salud. ⁽⁴⁰⁾

1.8.8. ALTERACIONES PROVOCADAS POR LA FALTA DE INSULINA

La Diabetes Mellitus es la carencia absoluta o relativa de insulina que da como resultado acumulaciones anormales de grasa y deficiencias en el metabolismo de las proteínas y los carbohidratos. Inicialmente, la ausencia en la producción de insulina afecta a la captación y entrada de glucosa en el músculo y células grasas. Cuando la ingesta de glucosa disminuye, el cuerpo demanda combustible y el glucógeno se libera desde el hígado. ⁽³⁷⁾

El nivel de glucosa en sangre se eleva aún más. Cuando los niveles de glucosa en sangre se acercan a los 180 mg/dl, la capacidad de los conductos renales para reabsorber la glucosa (el umbral renal) se excede, y la glucosa es excretada por la orina (glucosuria). Puesto que la glucosa es un diurético osmótico, se excretan agua y sales en grandes cantidades y se produce la deshidratación celular. ⁽³⁷⁾

Cuando la situación se prolonga, la excesiva diuresis (poliuria) combinada con la pérdida de calorías ocasiona polidipsia (sed aumentada), polifagia (hambre aumentada) y fatiga: los síntomas clásicos de la Diabetes Mellitus. ⁽³⁷⁾

1.8.9. TRATAMIENTO

1.8.9.1. NUTRICIÓN

Una dieta apropiada es esencial. Para muchos pacientes con Diabetes Mellitus un buen programa de control de peso es suficiente por si solo para tratar la enfermedad. Es necesario elaborar una dieta específica para cada individuo orientada, básicamente, hacia la reducción de peso mediante un control individual y el establecimiento de unos patrones de comida. Para conocer cuáles son su peso y talla ideales se puede recurrir a tablas ya establecidas. Si su peso excede en un 20% o más el valor que indica la tabla y no es exageradamente musculoso, entonces padece un sobrepeso. ⁽⁴⁹⁾

Las bebidas alcohólicas tienden a agravar la diabetes. Así que se debe de limitar el consumo de alcohol, ya que éste es una fuente de calorías concentrada, y su consumo complica el control del peso. La meta de todas las dietas es doble. Por una parte ayudará a controlar la concentración de glucosa. Por otra, y muy importante, ayudará a controlar y reducir el peso. ⁽⁴⁹⁾

Los diabéticos deben regular cuidadosamente el consumo de hidratos de carbono (azúcar y almidones), grasas y proteínas. Se debe evitar el consumo de azúcares, tales como pasteles, tartas, bombones o bebidas dulces. Es conveniente incluir en la dieta alimentos ricos en fibra tales como el pan de trigo y centeno, frutas y vegetales. ⁽⁴⁹⁾

1.8.9.2. EJERCICIO

El ejercicio es otra parte importante en el tratamiento de los diabéticos. El ejercicio regular ayuda a mantener el peso adecuado, pero más importante todavía es el

beneficio sobre el aparato circulatorio. Los músculos utilizan más glucosa durante el ejercicio vigoroso, lo cual ayuda a que el nivel de glucosa disminuya. ⁽⁴⁹⁾

Existe un debate en cuanto al régimen de ejercicio más adecuado para diabéticos. Si éste es muy intenso disminuirá el nivel de glucosa en sangre, y debe estar alerta ante la posibilidad de un nivel excesivamente bajo. Una buena práctica es beber leche y carbohidratos 30 minutos antes del entrenamiento. Es conveniente tener siempre a mano un carbohidrato de acción rápida (por ejemplo una tableta de glucosa) ante la posibilidad de que aparezcan síntomas de hipoglucemia (nerviosismo, debilidad, hambre etc.). ⁽⁴⁹⁾

1.8.9.3. SUBSTANCIAS HIPOGLUCEMIANTES

1.8.9.3.1. SUBSTANCIAS YA CONOCIDAS Y PROBADAS

- ❖ *Allium sativum*
- ❖ *Allium cepa*
- ❖ *Artocarpusaltilis*
- ❖ *Baccharisgenisteloides*
- ❖ *Bahuiniacandicans*
- ❖ *Cissussycioides*
- ❖ *Ficus carica*
- ❖ *Galega officinalis*(metformina)
- ❖ *Hibiscussabdariffa*
- ❖ *Justicia secunda Vahl.*
- ❖ *Lagerstroemiaspp*
- ❖ *Momordicacharantia*
- ❖ *Morindacitrifolia*
- ❖ *Opuntia ficus indica*
- ❖ *Phyllanthussellowianus*

- ❖ *Tillandsia usneoides (L.) L*
- ❖ *Trigonella foenum-graecum*, etc.⁽⁴⁴⁾

1.8.9.3.2. MEDICAMENTOS

1.8.9.3.2.1. HIPOGLUCEMIANTES ORALES

Son medicamentos que se usan exclusivamente en DM tipo 2, y están agrupados en cinco grupos: ⁽⁵⁰⁾

TABLA N° III. DROGAS HIPOGLUCEMIANTES ORALES

DESCRIPCIÓN	FORMA FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	VÍA ADMINISTRACIÓN
<i>BIGUANIDAS</i>			
Metformina	Tableta	500 mg – 1000 mg	Oral
<i>DERIVADOS DE LAS SULFONILUREAS</i>			
Glibenclamida	Tableta	5 mg	Oral
<i>COMBINACIONES DE DROGAS HIPOGLUCEMIANTES ORALES</i>			
Metformina + Glibenclamida	Tableta	(250 mg – 500 mg) + (1.25 mg – 5 mg)	Oral

FUENTE: Cuadro Nacional de medicamentos Básicos 8^{va} Edición.

1.8.9.3.2.2. BIGUANIDAS

Las biguanidas son compuestos, los cuales tienen 2 moléculas de guanidina, las drogas de esta clase son: Buformin, Fenformin y Metformina. La Metformina, es eliminado únicamente por riñón, tiene una vida media corta de 2-4 horas, con menos afinidad hacia las membranas biológicas, no tiene efecto sobre la fosforilación oxidativa. La Metformina es la más utilizada por tener menor riesgo de asociarse a acidosis láctica, el cual es el efecto colateral más serio. ⁽⁵⁰⁾

A nivel gastrointestinal reduce la absorción de glucosa, inhibe la gluconeogénesis, estimula la captación celular de glucosa, incrementa la unión de insulina receptor. Disminuye la producción hepática de glucosa, mejora la tolerancia a la glucosa oral, así como incrementa la captación de glucosa en tejido muscular, estimulando la síntesis de glucógeno (metabolismo no oxidativo), además se ha visto que los transportadores de glucosa 1 y 4 aumentan su concentración en varios tejidos. ⁽⁵⁰⁾

En relación a los niveles de lípidos, la Metformina reduce el nivel sérico de colesterol LDL, triglicéridos VLDL. En diversos estudios se ha encontrado un aumento del 10% en el colesterol HDL tanto en pacientes diabéticos, como en sujetos sanos. ⁽⁵⁰⁾

1.8.9.3.2.3. EFECTOS SECUNDARIOS

Los efectos colaterales de la Metformina más comunes son a nivel gastrointestinal e incluyen anorexia, náusea, vómito, malestar abdominal y diarrea. Esta sintomatología usualmente es transitoria y llega a presentarse al inicio del tratamiento en 5 al 20% de todos los pacientes tratados con biguanidas. Otras manifestaciones incluyen sabor metálico, anemia macrocítica. Un efecto colateral muy raro pero serio es la acidosis láctica, siendo más frecuente que ocurra en pacientes con insuficiencia renal y/o cualquier estado de hipoperfusión tisular, y no se recomienda cuando la creatinina es mayor de 1.5 mg/dl. ⁽⁵⁰⁾

1.8.9.3.2.4. INDICACIONES

Está indicado en pacientes obesos, ya que tiene como ventaja sobre otros fármacos para la diabetes su ausencia sobre el efecto del peso, disminuye el apetito, e induce efectos favorables en distintos factores de riesgo cardiovascular. La Metformina está disponible en tabletas de 500 y 850 mg, se

recomienda tomarse al inicio de los alimentos y aumentar la dosis paulatinamente. La dosis máxima recomendada es de 2,850 mg por día. ⁽⁵⁰⁾

1.8.9.3.2.5. CONTRAINDICACIONES

El uso de Metformina está contraindicado en insuficiencia renal, insuficiencia hepática, historia de acidosis láctica, embarazo, alcoholismo, sepsis, enfermedad gastrointestinal severa, insuficiencia cardíaca o cualquier condición de hipoxia tisular que incremente el metabolismo anaerobio. ⁽⁵⁰⁾

1.8.9.3.3. LA INSULINA

Se usa en DM tipo 1, en Diabetes Gestacional y en DM tipo 2 cuando ya no responden al tratamiento con Antidiabéticos Orales. Las hay de 5 tipos: ⁽²⁶⁾

TABLA N° IV. TIPOS DE INSULINAS Y ANÁLOGOS

DESCRIPCIÓN	FORMA FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	VÍA ADMINISTRACIÓN
<i>Insulinas y análogos de acción rápida para inyección</i>			
Insulina de acción rápida	Solución/suspensión inyectable	100 UI/ml	Peritoneal
Insulina Lispro	Solución Inyectable	100 UI/ml	Peritoneal
<i>Insulinas y análogos de acción intermedia para inyección</i>			
Insulina de acción intermedia (NPH)	Solución/suspensión inyectable	100 UI/ml	Peritoneal
<i>Insulinas y análogos de acción intermedia para inyección</i>			
Insulina glargina	Solución/suspensión inyectable	100 UI/ml	Peritoneal

FUENTE: Cuadro Nacional de medicamentos Básicos 8^{va}. Edición.

1.8.10. METABOLISMO GLUCOLÍTICO

La glucolisis es el proceso mediante el cual una molécula de glucosa (de 6 átomos de C) es transformada en dos moléculas de piruvato (de 3 átomos de C), que posteriormente se transformará en acetil Co-A para entrar en el ciclo de Krebs. Durante el proceso se obtiene un balance neto de energía de 2 moléculas de ATP.

Al ser un proceso oxidativo, va acompañado de una reducción, por lo que además se obtienen 2 moléculas de $\text{NADH}^+ \text{H}^+$. Es una ruta prácticamente universal, pues casi todos los organismos utilizan la glucosa como fuente de energía. Consta de 10 reacciones agrupadas en dos fases:

1. Fase de gasto energético o “fase de hexosas” o etapa “preparativa”:

Es una etapa degradativa. No es oxidativa y además no se produce ATP, sino que se consumen 2 moléculas de ATP por cada glucosa.

2. Fase de obtención de energía o “fase de triosas” o etapa “oxidativa”:

Se oxida el NAD, que se transforma en $\text{NADH}^+ \text{H}^+$ y se forman 4 moléculas de ATP por transferencia de grupos fosfato al ADP.⁽³⁴⁾

La glucolisis ocurre en el citosol, pero la glucosa es altamente polar, por lo que no puede difundir a través de la membrana celular al ser ésta hidrofóbica, de modo que entra en la célula por transporte facilitado mediante proteínas transportadoras. Es un proceso que no requiere O_2 para las oxidaciones, sino que utiliza para ello intermediarios fosforilados. Estos intermediarios están en forma aniónica (carga negativa) y normalmente van combinados con el Mg^{2+} . La glucosa que se degrada en el proceso puede proceder de:

- ✓ Las reservas celulares de glucógeno GLUCONEOGÉNESIS.
- ✓ Los hidratos de Carbono que se hidrolizan en el intestino (Polisacáridos, disacáridos, etc).⁽³⁴⁾

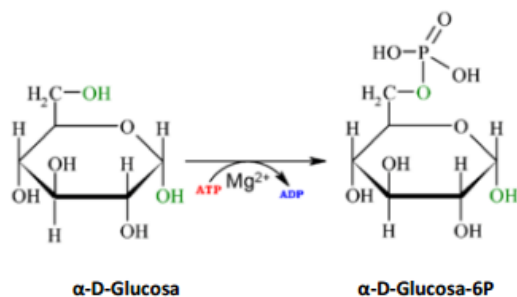
Desde el punto de vista energético, el rendimiento es muy bajo, pues solo se obtienen 2 ATP, pero es importante porque se forma el ácido pirúvico, que participa en otras reacciones donde la energía neta liberada es mucho mayor.⁽³⁴⁾

1.8.10.1. ETAPAS DE LA GLUCOLISIS

1.8.10.1.1. PRIMERAFASE: GASTO O APOORTE ENERGÉTICO

Reacción 1: Fosforilación en el C₆ de la Glucosa para dar Glucosa-6-fosfato.

De éste modo se consigue activar la molécula (aumentar su energía), para poder utilizarla en otros procesos. Para que se rompa el esqueleto carbonado es necesaria la hidrólisis de una molécula de ATP de la reserva celular.⁽³⁴⁾



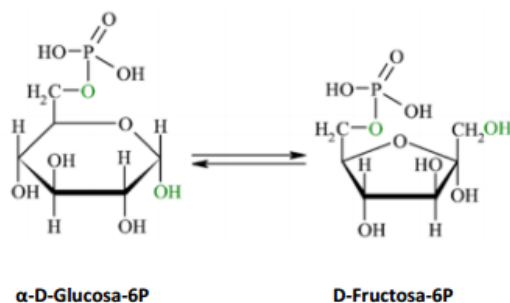
Esta reacción es irreversible y está catalizada por un enzima denominado hexokinasa (kinasa = cataliza reacciones de fosforilación), que constituye el primer

punto de control de la ruta, pues es inhibida por altas concentraciones de G6P, aunquees independiente de la concentración de ATP.⁽³⁴⁾

Reacción 2: Isomerización de la Glucosa-6-P para dar Fructosa-6-P.

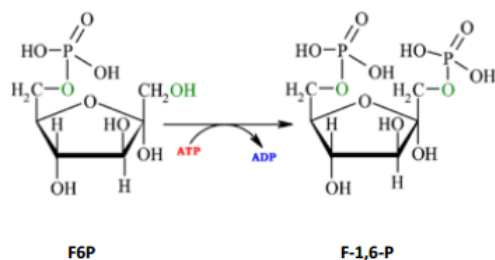
La G6P rompe su forma cíclica y se abre, sufriendo unos procesos que dan lugar a la formación de un intermediario de reacción, denominado cis-enol, con una corta

vida que seguidamente se transforma en una cetosa, que al ciclarse da lugar a la forma furanosa de la F6P.⁽³⁴⁾



Es una reacción reversible de isomerización de aldosa a cetosa catalizada por la fosfoglucoisomerasa.⁽³⁴⁾

Reacción 3: Fosforilación de la Fructosa-6-P en el C1, para dar fructosa-1,6-bisfosfato (FBP).⁽³⁴⁾

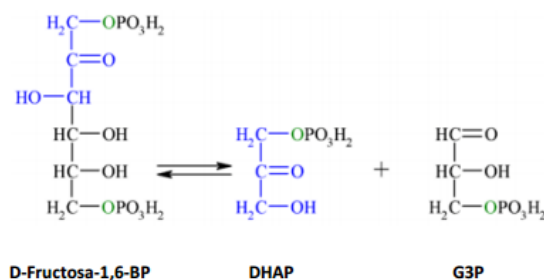


Es una reacción irreversible, catalizada por una kinasa, concretamente la fosfofructokinasa-1 (PFK-1), que fosforila el carbono 1 de la F6P. Ésta reacción constituye el 2º y principal punto de control de la glucólisis, pues cuando las concentraciones de ATP son altas, este enzima es inhibido y cesa la glucólisis. También está controlada por las concentraciones de citrato.⁽³⁴⁾

Reacción 4: Fragmentación de la Fructosa-1,6-Bisfosfato que dará 2 triosas fosfato:

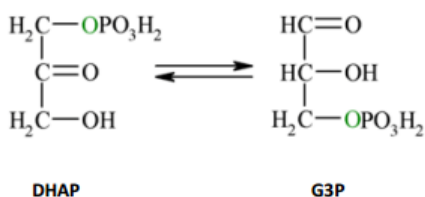
a) Dihidroxiacetona- fosfato (DHAP)

b) Gliceraldehído-3-fosfato (G3P). La 3-fosfodihidroxiacetona (DHAP) corresponde a los átomos de carbono 1, 2 y 3 de la FBP, mientras que el gliceraldehído-3-fosfato procede de a los carbonos 4, 5 y 6 de la FBP, siendo el C6 el 1º de la nueva molécula (G3P).⁽³⁴⁾



El enzima que cataliza esta reacción es una aldolasa, concretamente recibe el nombre de fructosa bisfosfatoaldolasa.⁽³⁴⁾

Reacción 5: Isomerización de la dihidroxiacetona-fosfato (DHAP) que se transforma en otra molécula de gliceraldehído-3-P en una reacción reversible.⁽³⁴⁾



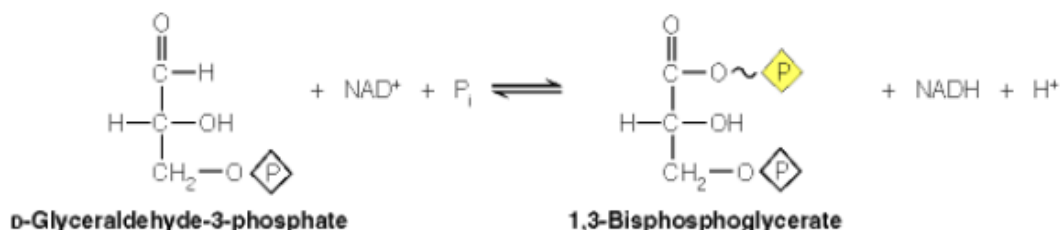
Reacción catalizada por la triosa-fosfato isomerasa.

1.8.10.1.2. SEGUNDA FASE: GANANCIA O BENEFICIO ENERGÉTICO

Reacción 6: Oxidación y Fosforilación del D-Gliceraldehído-3-P (G3P) para dar 1,3-Bifosfoglicerato.

Se trata de una oxidación que requiere por tanto una reducción. Al mismo tiempo se produce la incorporación de un Pi (fosforo inorgánico) por cada molécula de

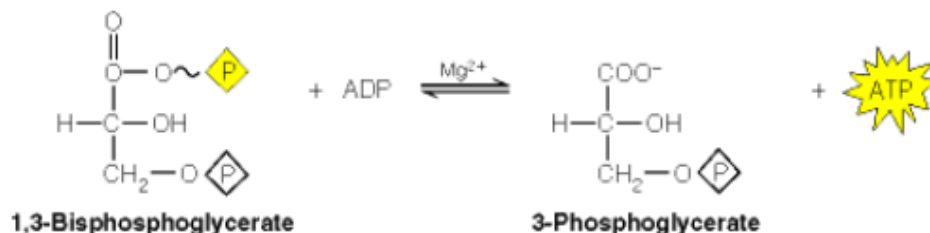
G3P, el cual va a quedar unido mediante un enlace rico en energía. Los dos hidrógenos del carbono 1 pasan al coenzima NAD^+ , el cual es reducido a $\text{NADH} + \text{H}^+$, y se forma un doble enlace $\text{C} = \text{O}$. Se trata de una deshidrogenación u oxidación del sustrato.⁽³⁴⁾



La reacción es catalizada por un enzima denominado fosfogliceraldehído deshidrogenasa, el cual presenta un centro activo con un resto de $-\text{SH}$.⁽³⁴⁾

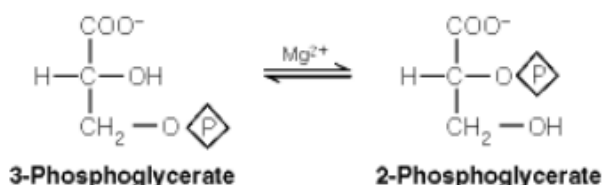
Reacción 7: Cesión de 1 grupo fosfato del 1,3-Bifosfoglicerato al ADP (genera ATP. 1ª fosforilación a nivel de sustrato).

El BPG libera con el enlace rico en energía, suficiente para formar el ATP. Por tanto se producen dos moléculas de ATP, que ya compensan el gasto energético de la primera etapa. Es una reacción reversible, la cual ocurre cuando la concentración de ATP es pequeña, ya que en presencia de una alta concentración de ATP puede ocurrir el proceso inverso.⁽³⁴⁾



El enzima que cataliza esta reacción es la fosfogliceratokinasa.⁽³⁴⁾

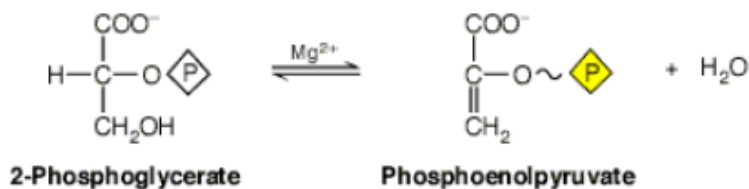
Reacción 8: Isomerización del 3-fosfoglicerato para dar 2-fosfoglicerato.⁽³⁴⁾



Reacción catalizada por el enzima fosfogliceratomutasa. ⁽³⁴⁾

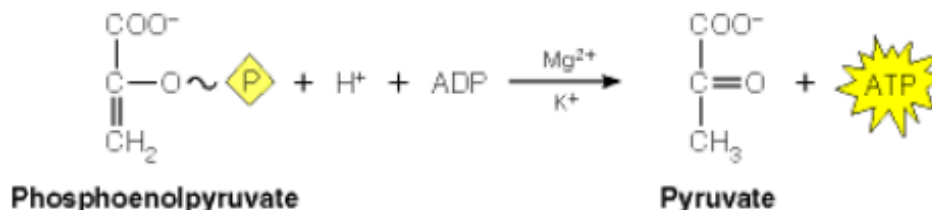
Reacción 9: Deshidratación del 2-Fosfoglicerato, con pérdida de una molécula de agua procedente del OH libre del carbono 3 y el H del carbono 2.

Esto da lugar a un doble enlace entre el carbono 2 y el 3, dejando el fosfato del carbono 2 unido mediante un enlace rico en energía, para dar lugar al ácido fosfoenolpirúvico (PEP). ⁽³⁴⁾



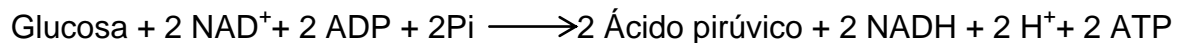
El enzima encargado de catalizar esta reacción es una deshidratasa denominada enolasa. ⁽³⁴⁾

Reacción 10: Cesión de 1 grupo fosfato del Fosfoenolpiruvato al ADP (genera ATP. 2ª fosforilación a nivel de sustrato). Se trata de una reacción irreversible en la que se forma un intermediario de reacción inestable llamado enol pirúvico, que rápidamente pasa a piruvato. ⁽³⁴⁾



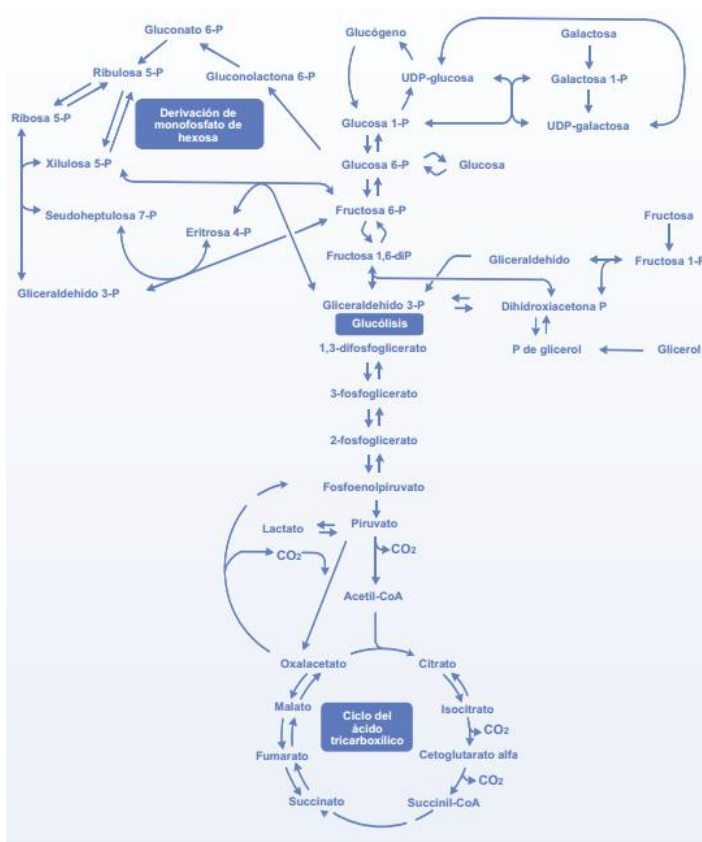
Reacción catalizada por la piruvatokinas. Constituye el tercer punto de control de la glucólisis pues es activada por la fructosa-1,6, bifosfato y AMP. ⁽³⁴⁾

BALANCE GLOBAL DE LA GLUCOLISIS



1.8.10.2. BIOSÍNTESIS DE LA INSULINA

La insulina se produce en las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas. Como es usual en las proteínas de secreción, el precursor de la hormona (la preproinsulina) lleva un péptido señal que dirige la cadena polipeptídica hacia el interior del retículo endoplasmático. Allí se produce la proinsulina después del rompimiento del péptido señal y la formación de puentes disulfuro. La proinsulina llega al aparato de Golgi y ahí es empacada en vesículas (conocidas como gránulos beta) en las que tras el rompimiento del péptido C se forma la insulina madura, que se almacena en forma de hexámeros que contienen cinc hasta su liberación. ⁽⁷⁾



FUENTE: https://www.insk.com/assets/descargables/Esquema_rutas_metabolicas.pdf

IMAGEN ILUSTRATIVA N°5: ESQUEMA DE LA GLICÓLISIS

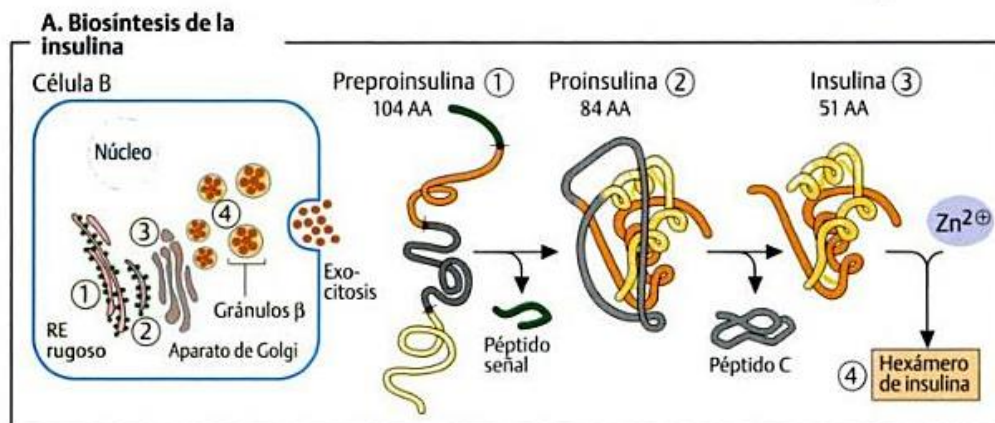


IMAGEN ILUSTRATIVA N°6: BIOSÍNTESIS DE LA INSULINA

1.9. FASES DE ESTUDIOS

1.9.1. FASE 0 O PRECLÍNICA

La farmacología preclínica se refiere a los estudios que se realizan "in vitro" y/o en animales de experimentación, cuyo fin es obtener información farmacéutica, farmacocinética, farmacodinámica y toxicológica de sustancias con beneficio médico potencial. El propósito de los estudios preclínicos, es proteger al ser humano de los efectos tóxicos inherentes al fármaco en estudio, que ponen en peligro la vida, y en determinadas circunstancias, ocasionaran la muerte.⁽¹⁰⁾

Al realizarlos, se pretende determinar la seguridad de los fármacos cuando se administran en animales y así disminuir, hasta donde sea posible, los riesgos potenciales de toxicidad y letalidad en los voluntarios sanos que por primera vez serán expuestos al nuevo fármaco. Al desarrollar un fármaco como producto medicinal en humanos, los estudios preclínicos por ley deben de realizarse, porque proporcionan la información necesaria para establecer si se justifica o no continuar con la investigación farmacológica en fases clínicas.⁽¹⁰⁾

1.9.2. FASE CLÍNICA

Después de un resultado positivo en pruebas preclínicas, la organización patrocinadora (comúnmente un fabricante de medicamentos) buscará la aprobación para conducir estudios clínicos. Una vez que se haya concedido la aprobación, el patrocinador comúnmente completará tres fases de pruebas clínicas con el fin de que la autoridad regulatoria aplicable apruebe el nuevo tratamiento. Una cuarta fase opcional comúnmente sigue la aprobación.⁽¹⁰⁾

1.9.2.1. FASE I

Estudia la seguridad del nuevo medicamento en voluntarios sanos y los resultados de estos ensayos clínicos pueden ser críticos para la continuidad del estudio. ⁽³²⁾

- **Alcance:** Una serie de pequeñas pruebas para determinar cómo la gente sana (aquellos sin la condición o enfermedad que el medicamento tratará) reacciona y es afectada por el tratamiento.
- **Sujetos:** Voluntarios sanos que no estén tomando otras medicinas.
- **Número de voluntarios:** Menos de 100.
- **Duración:** Varios meses.
- **Meta:** Determinar la dosis óptima y establecer que el medicamento es generalmente seguro. ⁽³²⁾

1.9.2.2. FASE II

El proceso de probar un medicamento en investigación en un número más pequeño de sujetos para mostrar que es generalmente seguro y efectivo en tratar o prevenir una condición o enfermedad específicas. ⁽³²⁾

- **Alcance:** Un número limitado de estudios que ayudan a establecer la seguridad y efectividad del medicamento y a identificar sus efectos secundarios.
- **Sujetos:** Pacientes que tengan la condición o enfermedad a tratar.
- **Número de voluntarios:** Varios cientos.
- **Duración:** Varios meses a 2 años.
- **Meta:** Establecer la manera en que los doctores deberán usar el medicamento para tratar a pacientes con la condición o enfermedad especificadas. ⁽³²⁾

1.9.2.3. FASE III

El proceso de probar un medicamento en investigación en una población más grande de sujetos para demostrar que es seguro y efectivo en tratar o prevenir una condición o enfermedad específicas.⁽³²⁾

- **Alcance:** Un gran número de estudios diseñados para establecer la seguridad y efectividad de un medicamento e identificar sus efectos secundarios.
- **Sujetos:** Pacientes que tengan la condición o enfermedad a tratar, que puedan tener otras enfermedades, y que puedan estar tomando medicamentos además del medicamento en investigación.
- **Número de voluntarios:** Varios miles.
- **Duración:** Varios meses a varios años.
- **Meta:** Establecer la manera en que los doctores deberán usar el medicamento para tratar a pacientes con la condición o enfermedad especificadas.⁽³²⁾

1.9.2.4. FASE IV Ó POSCOMERCIALIZACIÓN

Se perfilan aspectos específicos de la toxicidad del medicamento, así como la influencia farmacocinética o farmacodinamia de diversos factores fisiológicos y patológicos o de posibles interacciones con otros fármacos con el fin de establecer pautas de administración más seguras.⁽³¹⁾

- **Alcance:** Estudios múltiples para determinar la manera en que un medicamento se compara con otros medicamentos, para determinar su seguridad en gran número de pacientes e identificar sus efectos en pacientes con condiciones que fueron excluidas desde los estudios de la fase III.

- **Sujetos:** Pacientes que tengan la condición o enfermedad a tratar, que puedan tener otras enfermedades, y que pueda estar tomando medicamentos además del medicamento de estudio.
- **Número de voluntarios:** Varios miles.
- **Duración:** Varios meses a varios años.
- **Meta:** Determinar si el uso del medicamento puede ampliarse para incluir a más pacientes y/o si asuntos adicionales de seguridad necesitan dirigirse.⁽³²⁾

Tanto la fase II como la fase III valoran la seguridad y efectividad del medicamento en investigación y se establece una relación eficacia-toxicidad que será decisiva para el registro del nuevo medicamento.^{(31) (32)}

Frecuentemente involucran estudios controlados en los que se compara el medicamento de estudio con un placebo (píldora de azúcar) o con un medicamento existente. Esta comparación ayuda a minimizar la desviación en la interpretación de los resultados del estudio. Sin embargo, esto NO significa que aquéllos en el grupo con placebo nunca reciban el medicamento en investigación.⁽³²⁾

Los estudios clínicos de la fase III son los más significativos porque involucran un gran número de gente que recibe tratamiento por un período extenso. El resultado de los estudios de la fase III proporciona la base para la aprobación de la FDA y establece la manera exacta en que se debe usar el medicamento.⁽³²⁾

1.10. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En la actualidad, los experimentos con animales se utilizan fundamentalmente en investigación básica y en control de calidad de productos, donde no se han podido sustituir por técnicas alternativas. Los animales de laboratorio deben estar sanos,

genéticamente definidos y mantenidos en un medio ambiente controlado, para que estos resultados experimentales obtenidos sean válidos y reproducibles.⁽²²⁾

Un uso responsable y racional de estos animales de experimentación, conlleva un conocimiento previo de sus características biológicas (anatómicas, fisiológicas y etológicas), y un mantenimiento (alojamiento, alimentación y manejo) apropiado para satisfacer todas sus necesidades, promover su salud y bienestar, para lograr el fin propuesto.⁽²²⁾

Así el uso de animales de laboratorio en estudios de investigación biomédica y producción de reactivos biológicos en general, requiere que éstos sean los apropiados para que proporcionen la seguridad en los resultados esperados, para ello, es necesario contar con bioterios que brinden animales de calidad microbiológica y genéticamente definidos mantenidos bajo condiciones estandarizadas y de acuerdo con normas internacionales establecidas.⁽³³⁾

El animal de laboratorio tiene que ser respetado como ser vivo, entender que padece necesidades y sufre dolor, por ley es obligación del personal que lo cuida, mantiene y utiliza (investigador), asegurar su bienestar y confort mientras viva. El animal de laboratorio es aquel que es engendrado y producido en condiciones controladas, mantenido en un entorno controlado, posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos, existe una comprobación sistemática de estos antecedentes.⁽³³⁾

También es definido como cualquier especie animal que, mantenido bajo determinadas condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información. Ejemplo de estas especies son: el ratón, la rata, el hámster, el conejo, el perro, el mono, etc.⁽³³⁾

1.10.1. PROCEDENCIA

Las ratas comenzaron a utilizarse a mediados del siglo XIX, proceden de la rata noruega *Rattusnorvegicus*.⁽²²⁾

Las ratas Wistar son ratas albinas que pertenecen a la especie *Rattusnorvegicus*. Esta variedad fue desarrollada en el Instituto Wistar en 1906 para su uso en la investigación biológica y médica, y es la primera cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo en un momento en que los laboratorios utilizaban principalmente *Mus musculus*, o el ratón común de las casas.⁽⁵²⁾

La rata Wistar es actualmente una de las cepas de ratas más populares utilizadas para la investigación de laboratorio. Se caracteriza por su cabeza ancha, orejas largas, y con una longitud de la cola que es siempre inferior a la longitud de su cuerpo.⁽⁵²⁾

1.10.2. MANIPULACIÓN

Existen diferentes formas de sujetar a la rata:

- 1) Tomar al animal por la cola, teniendo cuidado que no escale su propia cola y lo muerda. Apoyar la palma de la mano sobre el lomo del animal, colocar los dedos índice y medio a ambos lados de la mandíbula, de forma que la cabeza de la rata quede entre dichos dedos impidiendo su movimiento. Con la otra mano tome la parte posterior del cuerpo. Así se puede levantarla sujetándola firmemente.
- 2) Tomar la rata apoyando la mano alrededor del tórax, quedando una de las patas entre sus dedos índice y medio y la otra sobre su dedo pulgar (con el dedo índice realice una presión leve sobre la mandíbula de la rata, para

prevenir mordeduras), con la otra mano, tome la parte posterior del cuerpo y levántela, sujetándola firmemente.

- 3)** Tomar el animal por la piel del cuello con los dedos pulgar e índice por detrás de las orejas y con los otros dedos de su mano sujetar la piel de todo el lomo de la rata. Levántela, sujetándola firmemente. ⁽²⁴⁾

1.10.3. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

1.10.3.1. VÍA ORAL

Se utiliza cuando se necesita una exposición sistémica, se sabe que la exposición gastrointestinal es buena y hay un escaso metabolismo de primer paso en el hígado. Se utiliza frecuentemente en investigaciones toxicológicas a pesar del metabolismo de primer paso. Se utiliza también cuando se estudia un efecto local en el tracto gastrointestinal. ⁽⁴²⁾

Las sustancias pueden introducirse en la boca o el estómago del animal mediante:

- a)** Inclusión en comida o agua; este método es el que más se asemeja a la ingestión de sustancias en humanos y es particularmente adecuado cuando se requiere una administración del compuesto de larga duración, por ejemplo en ensayos carcinogénicos.
- b)** Administración orofaríngea de cápsulas, píldoras o fluidos; este método se utiliza cuando un producto es poco palatable (tiene mal sabor) o cuando se necesita una mayor precisión de la dosis.
- c)** Sonda oral; esta técnica también evita los problemas de palatabilidad y es el método más preciso para la administración de sustancias en el tracto gastrointestinal.

El método de elección dependerá de la especie, los requerimientos nutricionales, estado fisiológico de los animales, propósito del experimento y la precisión de dosis que se requiera. ⁽⁴²⁾

Se puede usar el alimento o el agua, en volumen máximo de 1 ml de solución por cada 100 g de peso del animal, cuando es vehículo oleoso y 2 ml de solución cuando es solución acuosa; lo ideal es mediante sonda orogástrica y teniendo un buen conocimiento de la anatomía de la zona orofaríngea. ⁽³³⁾

1.10.3.2. VÍA INTRAVENOSA

Se utiliza con frecuencia en experimentos fármaco-toxicológicos para simular la vía de exposición a formulación de drogas, productos de reposición de la sangre, soluciones de nutrientes y agentes infecciosos y de diagnóstico. La vía asegura la consecución de la máxima exposición al plasma de la forma más rápida posible y evita la posibilidad de eliminación por el metabolismo preenterohepático. ⁽⁴²⁾

Se utiliza agujas de 27 - 30 G y jeringas tuberculina de 22 – 25 G en ratas. El volumen a inocular es de 0,5 ml hasta 1% de su peso en ratas. No utilizar medicamentos con vehículo oleoso o sustancias irritantes. ⁽³³⁾

1.10.3.3. VÍA INTRA-ARTERIAL

La vía intra-arterial se utiliza raramente, excepto para valorar las posibles consecuencias de inyecciones intra-arteriales accidentales de una formulación que en principio se pretendiera por vía intravenosa. ⁽⁴²⁾

1.10.3.4. VÍA INTRAMUSCULAR

Se utiliza como vía de administración sistémica. Se usa a veces, en estudios de liberación lenta en los que se emplean implantes o formulaciones oleosas, para proporcionar una fuente desde donde la droga sea absorbida gradualmente. También se utiliza para valorar vacunas y para administrar anestésicos. Se realiza en la región antero-lateral del muslo con agujas de 25 G con jeringa de tuberculina en ratas. El volumen es de 0,1 ml a 0,2 ml por sitio. ⁽⁴²⁾ ⁽³³⁾

1.10.3.5. VÍA INTRAPERITONEAL

Se utiliza para administrar volúmenes relativamente grandes de sustancias solubles, tales como los anestésicos, a pequeños animales, cuando es necesario que se absorban rápidamente y cuando la vía oral o la intravenosa no son las apropiadas. Se usa jeringas y aguja calibre 21 G en ratas. Se puede administrar desde 5 ml a 10 ml en ratas. Una rápida administración del fluido puede causar daños en el tejido y hemorragia debido a la presión interna. ⁽⁴²⁾ ⁽³³⁾

1.10.3.6. VÍA INTRADÉRMICA

Es una técnica utilizada frecuentemente en estudios de inflamación, sensibilización y diagnóstico de flujo sanguíneo cutáneo y en inmunología. A menudo el objetivo es administrar un antígeno de otra especie o un mediador inflamatorio y estudiar la reacción (edema, inflamación o enrojecimiento) que puede ocurrir rápidamente o después de un período de tiempo de minutos o días. ⁽⁴²⁾

Se prefieren los sitios en que abunde tejido conjuntivo, en el dorso a nivel del cuello o los flancos. La aguja se inserta en la piel paralela a la columna vertebral. Se utiliza agujas de 22 – 25 G para ratas. En una rata el volumen será de 1 a 2 ml por sitio. ⁽³³⁾

1.10.4. TÉCNICAS PARA LA EXTRACCIÓN DE SANGRE

La sangre se extrae de los animales para una gran variedad de propósitos. Los científicos han de ser conscientes de que el proceso puede ser innecesariamente estresante para un animal, sencillamente por el trato, el tipo de anestesia o la incomodidad que se asocia a una determinada técnica. Los cambios fisiológicos asociados al incremento de tensión (estrés) pueden incluso invalidar los resultados. ⁽²⁹⁾

El estrés puede causar reacciones fisiológicas susceptibles de afectar a la investigación, debería verificarse el método de muestreo de sangre utilizado en busca de cualquier cambio asociado. Entonces sería posible ver si un animal es capaz de adaptarse a un procedimiento y en consecuencia está menos estresado. Obviamente, el estrés debe reducirse al mínimo, en pro de una buena ciencia y la mejora del bienestar animal. ⁽²⁹⁾

El volumen de sangre extraído de un animal, normalmente será determinado por el protocolo que a su vez, dependerá de aspectos tales como la sensibilidad de las pruebas que se utilizarán posteriormente. Es importante que las técnicas científicas sean refinadas constantemente para que sólo se necesiten pequeños volúmenes de muestra de sangre. No obstante, aún puede haber ocasiones en las que el pequeño tamaño del animal sea crítico debido al volumen o frecuencia de las muestras de sangre requeridas. El muestreo frecuente incrementa el estrés en el animal y si es necesario, el científico deberá considerar la posibilidad de canulación. Incluso a corto plazo, esta técnica es una alternativa preferible a la punción venosa repetida. ⁽²⁹⁾

Se puede pinchar una vena superficial para obtener sangre destinada a realizar valoraciones hematológicas o químicas que requieran solamente 50-200 ml (aproximadamente equivalente a 1-4 gotas). Normalmente no se necesita anestesia ya que el estrés asociado sería probablemente mayor que la

incomodidad de un pinchazo de aguja o de una punción con un pequeño objeto esterilizado puntiagudo.⁽²⁹⁾

1.10.5. VÍAS DE EXTRACCIÓN DE SANGRE

1.10.5.1. VENAS Y ARTERIAS CAUDALES

Cuando se saca sangre de las ratas, es mejor introducirlas en un cilindro o caja con un agujero posterior por donde se sacará la cola y se la sujetará firmemente para detener cualquier movimiento inadvertido que podría dañar la arteria que se está pinchando. Después se limpia con un agente adecuado antes de pinchar el vaso. La sangre se recoge directamente en el dispositivo que mide la glucemia.⁽²⁹⁾

Después de este procedimiento, hay que sujetar firmemente un algodón sobre la arteria durante al menos 2 minutos (5 minutos pueden ser necesarios) antes de soltar. El fracaso en impedir el sangrado continuo tendrá como resultado un gran hematoma sobre la arteria lo que puede provocar un daño permanente.⁽²⁹⁾

1.10.5.2. PUNCIÓN CARDÍACA

La punción cardíaca siempre deberá llevarse a cabo bajo anestesia general para todos los animales de laboratorio. Normalmente se pincha el ventrículo izquierdo con el animal tumbado sobre el lado derecho. (Alternativamente el ventrículo derecho puede ser penetrado y el animal tumbado en el lado izquierdo para el muestreo venoso.) Otro método igualmente aceptable es tumbar el animal de espaldas e introducir una larga aguja justo debajo del esternón hasta el corazón.⁽²⁹⁾

Es común utilizar este método para sangrías totales, pero también es útil para obtener muestras únicas de sangre en cobayas y hámsteres y ocasionalmente en

los hurones. Cuando se aplica este procedimiento con fines terminales, hay que asegurar la muerte después de la exanguinación administrando una sobredosis de anestésico o practicando una incisión en el corazón. ⁽²⁹⁾

La punción cardíaca repetida habrá de justificarse cuidadosamente en una autorización de proyecto debido a su potencial de efectos adversos y no se recomienda para cualquier especie, es preferible la canulación de larga duración. ⁽²⁹⁾

1.10.5.3. SENO RETRO-ORBITAL

Esta técnica debe ser llevada a cabo únicamente cuando no exista método alternativo y siempre por personal calificado debido al elevado riesgo de dañar estructuras adyacentes al globo ocular, lo que puede originar infecciones severas, ceguera, etc. ⁽⁴⁸⁾

Descripción de la técnica:

1. Una vez anestesiado el animal y comprobado que se ha alcanzado el plano quirúrgico, sujetarlo estirando la piel del cuello hacia atrás asegurándose de no dificultar la respiración.
2. Insertar el capilar en el ángulo externo del ojo (2 mm aproximadamente) y girar suavemente hasta que la sangre fluya por el mismo, recoger la muestra y retirar el capilar.
3. Oprimir ligeramente la zona de punción con una gasa o papel para detener la hemorragia. Comprobar que la recuperación de la anestesia se produce adecuadamente aportando las medidas que se consideren necesarias para ello.

Observar al animal los días posteriores al sangrado para detectar la aparición de posibles complicaciones: protrusión de tejido adyacente al ojo, infecciones, hemorragias.⁽⁴⁸⁾

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se desarrolló en:

- Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIA PRIMA

El vegetal conocido como Escama de Pescado (*Drymariaovata*) y Flor Amarilla (*Sennamacrophylla*), se recolectaron en su totalidad en el Cantón Puyo de la Provincia de Pastaza para la posterior realización del extracto.

El Anisillo (*TagetesfilifoliaLag.*), se recolectó en el Cantón Riobamba de la Provincia de Chimborazo.

2.2.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas (*Rattusnorvegicus*) pertenecientes al Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.3. EQUIPOS

- ★ 1 RotavaporHeidolphhei-VAP advantage
- ★ 1 Bomba de vacío
- ★ 1 Computador HP PavilionEntertainment PC
- ★ 1 Refractómetro
- ★ 1 pH metro Hanna
- ★ 1 Refrigerador
- ★ 1 Sorbona

- ★ 1 Medidor de glucemia ONE TOUCH de Roche
- ★ 1 Cámara fotográfica NIKO
- ★ 1 Calculadora

2.2.4. MATERIALES DE LABORATORIO

- ★ 1 Caja de guantes estériles
- ★ 1 Mascarilla
- ★ 1 Gorro
- ★ 1 Mandil
- ★ 3 Vasos de precipitación de 1000 ml
- ★ 3 Trípodes
- ★ 3 Embudos
- ★ 1 Mortero con pistilo
- ★ 2 Probetas de 100 ml y 500 ml
- ★ 2 Balones esmerilados de 250, 1000 ml
- ★ 30 Tubos de ensayo
- ★ 3 Gradillas
- ★ 2 Pipetas de 5, 10 ml
- ★ Papel filtro
- ★ 1 Termómetro
- ★ 1 Reverbero
- ★ 1 Malla
- ★ 3 Frascos ámbar de 30, 50 ml
- ★ 1 Paquete de adhesivos
- ★ 3 Jeringuillas de insulina
- ★ 1 Pera de succión
- ★ 3 Picnómetros
- ★ 1 Cámara para éter
- ★ 1 Cánula

- ★ 3 Balones aforados de 10 ml
- ★ 1 Varilla de agitación
- ★ 3 Vasos de precipitación de 250 ml
- ★ 1 Funda de algodón
- ★ 3 Fundas de color rojo
- ★ 1 Vaselina pura
- ★ 1 Caja de polipropileno pequeña para el atrapamiento de la cola de la rata.
- ★ 1 Cuaderno de apuntes
- ★ Esferos, lápices
- ★ Testigo (envase para corto punzantes)
- ★ Jaulas para ratas.

2.2.5. REACTIVOS

- ★ Alcohol potable (96°)
- ★ Éter
- ★ Glucosa líquida
- ★ Tiras reactivas para ONETOUCH de Roche
- ★ Hipoclorito de Sodio a 5 ppm de concentración
- ★ Agua destilada
- ★ Ácido clorhídrico concentrado
- ★ Reactivo de Wagner
- ★ Solución de tricloruro férrico al 5%
- ★ Ácido sulfúrico concentrado
- ★ Cinta de magnesio metálico
- ★ Alcohol amílico
- ★ Cloroformo
- ★ Hidróxido de sodio
- ★ Hidróxido de potasio
- ★ Amonio

- ★ Reactivo de Baljet
- ★ Anhídrido acético
- ★ Solución de Sudan III al 0.6%
- ★ Metformina clorhidrato 850 mg

2.3. MÉTODOS

2.3.1. FASE EXPERIMENTAL

2.3.1.1. COMPROBACIÓN TAXONÓMICA E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

Se tomaron muestras de los respectivos vegetales, del Oriente como son *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, y *Tagetesfilifolia* Lag. de la Sierra; se colocaron en papel periódico, se las prensó e inmediatamente se las trasladó al Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, donde se examinaron los vegetales, que fueron ratificados con ejemplares existentes en la colección dirigida por el Ing. Jorge Caranqui, Curador del Hebario.

2.3.1.2. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

- ❖ Recolectar los vegetales, eliminar impurezas, restos de otras plantas, tierra, etc, sacudiéndola.
- ❖ Lavar con abundante agua y dejarlas sumergidas por 5 minutos aproximadamente en un recipiente que debe contener agua con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 5 ppm.
- ❖ Sacar al vegetal y quitar toda el agua posible.; dejar secar a la sombra, por una noche extendiendo todo el vegetal sobre una superficie plana y limpia para un secado uniforme.
- ❖ Triturar los vegetales en fragmentos de 1 cm y almacenarlos en bolsas plásticas debidamente rotulados, evitando el contacto con la luz y humedad.

2.3.1.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

2.3.1.3.1. PROCEDIMIENTO

- Colocar el vegetal triturado y pesado en un recipiente de vidrio con tapa, humedecer directamente con etanol al 95%, cubrir en su totalidad al vegetal con éste solvente, agitar para una completa humectación.
- Macerar por 3 - 5 días, agitándolo de 1 a 2 veces diarias; filtrar el material líquido en recipientes de vidrio ámbar con tapa y etiquetar cada recipiente respectivamente; dejar en refrigeración por 24 horas.
- Filtrar con ayuda de un embudo y papel filtro, dejando impurezas y clorofilas del vegetal en el papel, transferir el líquido filtrado a un balón esmerilado de 1000 ml.
- Concentrar el extracto en el Rotavapor a una temperatura de 50° C y 165 rpm y transferirlo a envases de vidrio de color ámbar estériles, rotular los envases respectivamente y llevarlos a congelación hasta su utilización.

2.3.1.4. ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS

El empleo de métodos físico-químicos de análisis, permite establecer la calidad de los extractos obtenidos a partir de drogas crudas, así como controlar su estabilidad. ⁽²⁾

2.3.1.4.1. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS

2.3.1.4.1.1. DETERMINACIÓN DEL OLOR

Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo. Se sintió el olor y se determinó si corresponde con la característica del producto. ⁽²⁾

2.3.1.4.1.2. DETERMINACIÓN DEL COLOR

Se tomó un tubo de ensayo bien limpio y seco, se llenó hasta las $\frac{3}{4}$ partes con la muestra de ensayo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas. ⁽²⁾

2.3.1.4.1.3. DETERMINACIÓN DEL SABOR

Colocar una pequeña cantidad de la muestra en el borde de la palma de la mano o en el dedo índice e inmediatamente ponerlo al contacto con la punta de la lengua para realizar la identificación del sabor. ⁽²⁾

2.3.1.4.1.4. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se entiende por densidad relativa a la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura, este término equivale a peso específico. ⁽²⁾

Primeramente se pesó el picnómetro vacío y seco a 2°C y se llenó con la porción de ensayo, se mantuvo a la temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 minutos, y se ajustó el líquido al nivel empleado. ⁽²⁾

Seguidamente se pesó cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repitió la operación con el agua destilada a 25°C, después de limpiar y secar el picnómetro. ⁽²⁾

Expresión de los resultados:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M₁: Peso del picnómetro con la muestra (g)

M₂: Peso del picnómetro con el agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra. ⁽²⁾

2.3.1.4.1.5. DETERMINACIÓN DEL pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógeno. ⁽²⁾

2.3.1.4.1.6. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio. ⁽²⁾

Se colocó sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, se ajustó el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. ⁽²⁾

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se colocó una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cerró el termoprisma y se enfocó la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición se procedió de la misma forma que con el agua. ⁽²⁾

2.3.1.5. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

2.3.1.5.1. ENSAYO DE WAGNER

Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). A ésta solución, se le adiciona 2 o 3 gotas del reactivo de Wagner y se reporta la opalescencia, turbidez definida y presencia de precipitado. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.5.2. ENSAYO DE ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. ⁽¹⁶⁾

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y es persistente por más de 2 minutos. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.5.3. ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de

una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). ⁽¹²⁾

Un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.5.4. ÁCIDO SULFÚRICO

A una alícuota del extracto añadir 2 o 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Un ensayo positivo determina la presencia de chalconas mediante una coloración roja y leucoantocianidinas con una coloración anaranjada. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.5.5. ENSAYO DE SHINODA

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Una alícuota de la muestra diluir con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción esperar 5 minutos, añadir 1 ml de alcohol amílico, mezclar las fases y dejar reposar hasta que se separen. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.5.6. ENSAYO DE BÖRNTRAGER

Detecta la presencia de quinonas. A una alícuota añadir 1 ml de cloroformo y 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Agitar

mezclando las fases y dejar en reposo hasta su posterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo. ⁽¹⁹⁾

2.3.1.5.7. ENSAYO DE BALJET

Útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultados positivos. A una alícuota añadir 1 ml de Reactivo de Baljet. La prueba es positiva cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo. ⁽¹⁹⁾

2.3.1.5.8. ENSAYO DE LIEBERMAN – BUCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. A una alícuota de muestra añadir 1 ml de cloroformo y 1 ml de anhídrido acético, mezclar bien. Por la pared del tubo de ensayo dejar resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible aunque rápido.
- Verde oscuro-negro final de la reacción. ⁽¹⁶⁾

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importante de estos compuestos. Para realizar el ensayo no puede haber agua en el medio de reacción, pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente. La reacción de Lieberman-Buchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenos, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por

interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.5.9. ENSAYO DE SUDAN III

Permite conocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, cuando un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución de Sudan III al 0.6% en glicerina-agua (1:1). La aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro, indica la presencia de lípidos y/o aceites esenciales. ⁽¹⁶⁾

2.3.1.6. INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN RATAS

2.3.1.6.1. TÉCNICA

Drogas hipoglucemiantes sintéticas como las sulfonilureas actúan aumentando la secreción de insulina, en tanto las biguanidas solo actúan en presencia de insulina residual. Para comprobar la actividad hipoglucemiante se produce una hiperglucemia o diabetes experimental en el animal a través de la administración de solución de glucosa al 60%. La glucosa (10 ml/kg de peso) se aplica en dosis simple como sobrecarga vía oral en ratas. Se desarrolla la diabetes casi instantánea en el animal. ⁽⁴⁵⁾

El índice diabetógeno (glucemia en ayunas) por glucosa al 60% puede ser moderado (60-90 mg/dl) o severo (> 90 mg/dl). A continuación se administra el extracto vegetal a explorar. Recordar que la prueba puede modificarse en presencia de diuréticos. Se emplea como control generalmente Metformina, Tolbutamida y en otras ocasiones la Clorpropamida. Muchos ensayos conviene iniciarlos en animales normoglucémicos para en una segunda etapa pasar al modelo hiperglucémico. ⁽⁴⁵⁾

2.3.1.6.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL FARMACOLÓGICO

PROTOCOLO EXPERIMENTAL FARMACOLÓGICO			
FASE 1 ACLIMATACIÓN	FASE 2 INDUCCIÓN	FASE 3 TRATAMIENTO	EVALUACIÓN
N° animales: 12 ratas	Medición inicial de valores basales de glucosa en ayunas en todos los grupos.	Grupo Blanco: No se administra solución de glucosa.	Con los datos de glucosa basal obtenidos, se realizará un test de tolerancia oral a la glucosa, (TTOG). Determinando así los picos más altos, comparando principalmente las curvas obtenidas de los Grupos Control Tratamiento 1, 2 y 3 con el Grupo Control Positivo.
Sexo: 9 Machos y 3 Hembras	INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA Alimentación: Mantener a los animales en ayunas por 24 horas. Solución de glucosa al 60%: Administrar sobrecarga de la solución en dosis de 10 ml/Kg de peso una sola vez al día a: Grupo Control Positivo, Grupo Control Negativo, Grupo Tratamiento 1, 2 y 3.	Grupo Control Positivo: Se administra la solución de glucosa al 60% y posteriormente la solución de Metformina de acuerdo al peso del animal (10 ml/Kg).	Determinar si el efecto farmacológico de cada extracto es el esperado de acuerdo a la hipótesis.
Edad: 54 – 70 días	Medición de valores de glucosa en todos los grupos a partir de la administración de glucosa en los siguientes tiempos: 30 minutos 60 minutos 90 minutos 180 minutos 210 minutos	Grupo Control Negativo: Se administra sólo la solución de glucosa al 60%.	

	240 minutos 300 minutos		
Camada: 3 ^{ra} y 4 ^{ta} generación.			
<p>CONDICIONES</p> <p>Temperatura: De 20 a 25 °C.</p> <p>Humedad Relativa ambiental: Entre 40 y 70%.</p> <p>Recambios de aire: Se debe generar entre 15 a 20/hora.</p> <p>Fotoperíodo: 12 horas luz/12 horas oscuridad.</p> <p>Ruido: Se permite un nivel máximo de 85 decibeles.</p> <p>Cama o Jaula: 2 animales en cada una.</p>		<p>Grupo Tratamiento 1:</p> <p>Se administra la solución de glucosa al 60% y posteriormente el extracto de <i>Drymariaovata</i> de acuerdo al peso del animal (10 ml/Kg).</p>	
<p>Días de cuarentena: 8 días</p>		<p>Grupo Tratamiento 2:</p> <p>Se administra la solución de glucosa al 60% y posteriormente el extracto de <i>Sennamacrophylla</i> de acuerdo al peso del animal (10 ml/Kg).</p>	
<p>ALIMENTACIÓN</p> <p>Pellets: 5-6 g por cada 100 g de peso corporal al día.</p> <p>Agua ad libitum: 10-12 mL por cada 100 g de peso corporal al día.</p>		<p>Grupo Tratamiento 3:</p> <p>Se administra la solución de glucosa al 60% y posteriormente el extracto de <i>Tagetesfilifolia</i> Lag.de acuerdo al peso del animal (10 ml/Kg).</p>	
DEFINICIÓN DE			

GRUPOS			
Grupo Blanco: 2 ratas.			
Grupo Control Positivo: 2 ratas.			
Grupo Control Negativo: 2 ratas.			
Grupo Tratamiento 1: 2 ratas.			
Grupo Tratamiento 2: 2 ratas.			
Grupo Tratamiento 3: 2 ratas.			

BIBLIOGRAFÍA: Protocolo propuesto para la comprobación del efecto hipoglucemiante en ratas (*Rattusnorvegicus*). Bioterio. Bqf. Germán Toapanta. Srta. María José Reyes Pazmiño.

FUENTE: Introducción al Manejo de Animales de Laboratorio: Roedores y Pequeñas Especies. Abraham Quezada Domínguez.

2.3.1.6.3. VALORES NORMALES DE GLUCOSA

Suero o plasma de ratas (en ayunas): 60 - 90 mg/dl (Según Charles River, 1984).

2.3.1.6.4. OBTENCIÓN DE SANGRE DE LA COLA DE LA RATA

Se empleó una jaula pequeña de polipropileno con un agujero que permitió el aislamiento de la cola de la rata. Se sujetó firmemente la cola para su desinfección y se pinchó en el extremo de la misma presionando hasta que se forme una gota que se colocó en la tira reactiva ONETOUCH.

Se usó la técnica de punción de los vasos de la cola para evitar la vía del seno orbital que produce mucho estrés al animal, muchas veces acarrea varios pinchazos hasta obtener la cantidad de sangre deseada y en ocasiones produce

pérdidas oculares y el consecuente sacrificio del animal. De igual forma mediante esta técnica se evitó la exposición al anestésico tanto del material biológico como de su manipulador.

2.3.1.6.5. DETERMINACIÓN DE GUCOSA EN SANGRE

Se evaluaron los niveles de glucosa antes de la administración del tratamiento, y posterior a la misma en siete tomas a diferentes tiempos en el mismo día. La muestra sanguínea fue extraída de cada una de las ratas en ayuno, del extremo de la cola y puesta en tiras reactivas para su análisis con el glucómetro ONE TOUCH de Roche.

2.3.1.6.6. ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO

Se administró en ayunas vía oral 10 ml/Kg de peso de cada uno de los extractos al Grupo de Tratamiento 1, 2 y 3 respectivamente, a cada lote una sola vez en el día.

Al grupo control positivo se le administró en ayunas Metformina clorhidrato en la concentración de 10 ml/Kg de peso una sola vez al día.

Al grupo blanco no se le administró ningún tratamiento y se lo mantuvo en ayunas.

Al grupo control negativo no se le administró ningún tratamiento, sólo la solución de glucosa al 60% en dosis de 10 ml/Kg de peso una sola vez al día y se lo mantuvo en ayunas.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. COMPROBACIÓN TAXONÓMICA E IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

La comprobación taxonómica e identificación botánica de los diferentes vegetales fue realizada por el Ing. Jorge Caranqui, Curador del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

3.2. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Los extractos siguiendo la respectiva técnica, se obtuvieron por maceración con etanol con el vegetal triturado; se concentró hasta un octavo de la muestra y se colocó en un frasco de color ámbar para las determinaciones de cada uno de ellos.

3.3. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LOS EXTRACTOS

3.3.1. DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

El análisis físico del extracto de:

El extracto de *Drymariaovata*, es un líquido de olor dulce, amarillo, turbio-pegajoso, de sabor picante, con un pH ácido de 5.05, la densidad e índice de refracción es superior al del agua.

El extracto de *Sennamacrophylla*, es un líquido de olor dulce, café-claro, turbio-pegajoso, de sabor dulce, con un pH ácido de 5.10, la densidad e índice de refracción es también superior al del agua.

El extracto de *TagetesfilifoliaLag.*, es un líquido de olor dulce, amarillo-rojizo, turbio, sabor amargo, pH ácido de 3.88, su densidad e índice de refracción superiores al del agua.

CUADRO N° 1. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *TagetesfilifoliaLag.*

PARÁMETRO	<i>Drymariaovata</i>	<i>Sennamacrophylla</i>	<i>TagetesfilifoliaLag.</i>
Aspecto	Líquido, Turbio, pegajoso	Líquido, Turbio, pegajoso	Líquido, Turbio
Olor	Dulce	Dulce	Dulce
Color	Amarillo	Café claro	Amarillo – rojizo
Sabor	Picante	Dulce	Amargo
pH	5.05	5.10	3.88
Densidad	1.114	1.079	1.194
Índice de Refracción	1.354	1.357	1.381

3.3.2. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

CUADRO N° 2. RESULTADOS DE COMPUESTOS PRESENTES EN EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia* Lag.

PRUEBAS	TIPO DE COMPUESTO	<i>Drymariaovata</i>	<i>Sennamacrophylla</i>	<i>Tagetesfilifolia</i> Lag.
WAGNER	Alcaloides	-	-	-
ESPUMA	Saponinas	++	++	-
FeCl ₃	Fenoles y Taninos	+++	-	-
H ₂ SO ₄	Chalconas	-	-	+
SHINODA	Flavonoides	++	+	++
BÖRNTRAGER	Quinonas	+	+	+
BALJET	Lactonas	++	-	++
M. BETOLO	Flavonas	-	-	+
LIEBERMAN	Triterpenos	-	++	-
BUCHARD	Esteroides	-	++	-
SUDAN III	Lípidos, Aceites Esenciales	-	-	+++
ROSENTER	Saponinas triterpénicas	-	++	-

Ausencia: (-)

Presencia: (+)

Moderada: (++)

Abundancia: (+++)

Mediante el Tamizaje Fitoquímico del extracto etanólico de *Drymariaovata* se pudo conocer que posee saponinas del tipo esteroideal, taninos del tipo pirocatecólicos, flavonoides y quinonas (cumarinas).

Los resultados del Tamizaje Fitoquímico del extracto etanólico de *Sennamacrophylla* señalaron la presencia de saponinas del tipo esteroideal,

flavonoides, quinonas, estructuras de tipo esteroidales y saponinas triterpénicas. De igual forma del extracto etanólico de *Tagetes filifolia* Lag. se pudo conocer que en su composición química se encuentran presentes chalconas, flavonoides, quinonas, compuestos con agrupamiento lactónico (cumarinas), flavonas y aceites esenciales.

3.4. INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN RATAS

3.4.1. Medición de la glucosa en sangre de animales de experimentación en mg/dl al inicio, intermedio y final de la inducción de hiperglucemia. Realizado en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad Ciencias. ESPOCH. Marzo 2013.

CUADRO N° 3. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

GRUPO	SEXO	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu
		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
		1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°
		toma 0'	toma 30'	toma 60'	toma 90'	toma 180'	toma 210'	toma 240'	toma 300'
BLANCO	MACHO	63	61	59	59	57	59	60	60
	HEMBRA	63	61	65	67	69	66	51	54
CONTROL	HEMBRA	101	152	148	136	116	112	115	98
POSITIVO	HEMBRA	103	169	145	117	88	98	96	78
CONTROL	MACHO	92	111	141	119	111	108	100	81
NEGATIVO	MACHO	88	130	127	133	102	118	88	77
TRATAMIENTO 1 (D o)	MACHO	115	153	139	155	99	99	94	82
	MACHO	98	136	120	140	100	95	89	76
TRATAMIENTO 2 (S m)	MACHO	78	133	121	110	114	118	105	109
	MACHO	86	110	105	98	102	106	99	101
TRATAMIENTO 3 (T f)	MACHO	118	147	159	114	145	149	151	100
	MACHO	120	136	142	115	147	147	150	110

CUADRO N° 4. MEDIAS DE VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

GRUPO	Glu (mg/dl) 1° toma 0'	Glu (mg/dl) 2° toma 30'	Glu (mg/dl) 3° toma 60'	Glu (mg/dl) 4° toma 90'	Glu (mg/dl) 5° toma 180'	Glu (mg/dl) 6° toma 210'	Glu (mg/dl) 7° toma 240'	Glu (mg/dl) 8° toma 300'
BLANCO	63	61	62	63	63	62,5	55,5	57
CONTROL POSITIVO	102	160,5	146,5	126,5	102	105	105,5	88
CONTROL NEGATIVO	90	120,5	134	126	106,5	113	94	79
TRATAMIENTO 1 (D o)	106,5	144,5	129,5	147,5	99,5	97	91,5	79
TRATAMIENTO 2 (S m)	82	121,5	113	104	108	112	102	105
TRATAMIENTO 3 (T f)	119	141,5	150,5	114,5	146	148	150,5	105

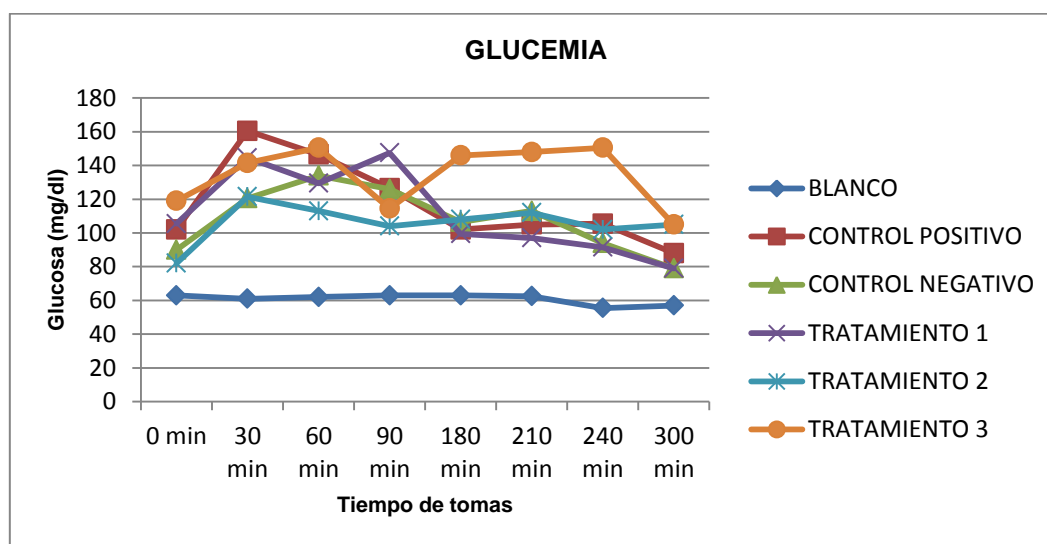


GRÁFICO N°1. INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA EN RATAS

La gráfica N° 1 señaló que el grupo blanco no presento variaciones relevantes en su glucosa, ya que el ligero descenso que se produce se debe al desgaste energético propio del metabolismo al encontrarse el animal en ayunas por 24

horas, mientras que el grupo control positivo tuvo su pico máximo a los 30 minutos y posterior a esto una continua y considerable disminución en sus valores a los 300 minutos.

El control negativo presentó ligeros aumentos en su glucosa siendo el pico máximo a los 60 minutos, así mismo un notable decrecimiento en su glucemia a los 300 minutos. En relación de los tres tratamientos el que mejor resultados presenta en cuanto a la actividad hipoglucemiante es el 2 ya que no sufre tantos efectos tipo ola y sus valores se mantienen bajos y tienden a disminuir; presentándose su pico más alto a los 30 minutos y su pico más bajo a los 240 minutos.

CUADRO N° 5. VALORES DESCRIPTIVOS DE LA GLUCEMIA EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONT. NEG.	16	107.8750	19.39716	4.84929	97.5390	118.2110
CONT. POSIT.	16	117.0000	25.87405	6.46851	103.2127	130.7873
TRATAMIENTO 1	16	111.8750	25.43980	6.35995	98.3191	125.4309
TRATAMIENTO 2	16	105.9375	13.02034	3.25508	98.9995	112.8755
TRATAMIENTO 3	16	134.3750	18.31893	4.57973	124.6135	144.1365
Total	80	115.4125	22.86709	2.55662	110.3237	120.5013

En el cuadro N° 5 se indica que la media de las glucemias de todos los animales no estuvieron dentro de los rangos normales de 60 - 90 mg/dl, ésta variable se puede atribuir a que nuestros animales de experimentación no se encontraban en las mismas condiciones que las ratas que indica la bibliografía. También nos

indica que los valores de la desviación típica de cada grupo no fueron muy significativos.

CUADRO N° 6. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE GLUCEMIA EN EL GRUPO CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 1 (D o) EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	72	1	72	0,162533949	0,692170271	4,493998478
Dentro de los grupos	7087,75	16	442,984375			
Total	7159,75	17				

El análisis de varianza indicó que probabilidad es menor a 1 señalando que la hiperglucemia fue inducida en los grupos de estudio, comprobando la efectividad de la solución de glucosa al 60%. También se indica que el valor de F es menor que su valor crítico, con lo que se concluye que el tratamiento no es efectivo.

CUADRO N° 7. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE GLUCEMIA EN EL GRUPO CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 2 (S m) EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	15,015625	1	15,015625	0,06057141	0,809166764	4,600109937
Dentro de los grupos	3470,59375	14	247,8995536			
Total	3485,60937	15				

El análisis de varianza con el nivel de significancia de 0.05, indicó que el valor de F es menor que su valor crítico, por lo cual se concluye que el tratamiento no es seguro.

CUADRO N° 8. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE GLUCEMIA EN EL GRUPO CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 3 (T₃) EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2809	1	2809	7,976471781	0,013518666	4,600109937
Dentro de los grupos	4930,25	14	352,1607143			
Total	7739,25	15				

El análisis de varianza con un nivel de significancia del 0.05, indica que el valor de F es mayor que su valor crítico, por lo que se confirma que el tratamiento es efectivo.

CUADRO N° 9. COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDICIONES DE GLUCEMIA EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA CONHSD de Tukey.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
CONTROL NEGATIVO (1.00)	2.00	-9.12500	7.41285	.733
	3.00	-4.00000	7.41285	.983
	4.00	1.93750	7.41285	.999
	5.00	-26.50000 [*]	7.41285	.005

	CONTROL POSITIVO (2.00)	1.00	9.12500	7.41285	.733
		3.00	5.12500	7.41285	.958
		4.00	11.06250	7.41285	.571
		5.00	-17.37500	7.41285	.143
	TRATAMIENTO 1 (3.00)	1.00	4.00000	7.41285	.983
		2.00	-5.12500	7.41285	.958
		4.00	5.93750	7.41285	.930
		5.00	-22.50000	7.41285	.027
	TRATAMIENTO 2 (4.00)	1.00	-1.93750	7.41285	.999
		2.00	-11.06250	7.41285	.571
		3.00	-5.93750	7.41285	.930
		5.00	-28.43750	7.41285	.002
	TRATAMIENTO 3 (5.00)	1.00	26.50000	7.41285	.005
		2.00	17.37500	7.41285	.143
		3.00	22.50000	7.41285	.027
		4.00	28.43750	7.41285	.002

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
CONTROL NEGATIVO (1.00)	2.00	-29.8458	11.5958
	3.00	-24.7208	16.7208
	4.00	-18.7833	22.6583
	5.00	-47.2208	-5.7792
CONTROL POSITIVO (2.00)	1.00	-11.5958	29.8458
	3.00	-15.5958	25.8458

	4.00	-9.6583	31.7833
	5.00	-38.0958	3.3458
TRATAMIENTO 1 (3.00)	1.00	-16.7208	24.7208
	2.00	-25.8458	15.5958
	4.00	-14.7833	26.6583
	5.00	-43.2208	-1.7792
TRATAMIENTO 2 (4.00)	1.00	-22.6583	18.7833
	2.00	-31.7833	9.6583
	3.00	-26.6583	14.7833
	5.00	-49.1583	-7.7167
TRATAMIENTO 3 (5.00)	1.00	5.7792	47.2208
	2.00	-3.3458	38.0958
	3.00	1.7792	43.2208
	4.00	7.7167	49.1583

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TRAT. 2	16	105.9375	
CONT. NEG.	16	107.8750	
TRAT. 1	16	111.8750	
CONT. POSIT	16	117.0000	117.0000
TRAT. 3	16		134.3750
Sig.		.571	.143

De acuerdo a los resultados obtenidos con el Método Tukey, podemos decir que el tratamiento 2 y 3 son efectivos ya que disminuyen los niveles de glucemia pero se diferencian por el valor de sus medias y con ello se considera más efectivo al Tratamiento 2 en el que se observa que los valores de glucemia en los animales de experimentación disminuyen considerablemente.

3.4.2. Medición del peso en gramos al inicio y al final de la inducción de hiperglucemia. Realizado en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Facultad Ciencias. ESPOCH. Marzo 2013.

CUADRO N° 10. RESULTADOS DE LOS VALORES DE PESO DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

GRUPO	SEXO	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)
BLANCO	MACHO	305,7	334,3
	HEMBRA	248,5	269,7
CONTROL POSITIVO	HEMBRA	219,1	259,9
	HEMBRA	201,6	229,7
CONTROL NEGATIVO	MACHO	241,2	291,2
	MACHO	252,6	283,4
GRUPO TRATAMIENTO1 <i>D o</i>	MACHO	201,3	226,4
	MACHO	-	214,3
GRUPO TRATAMIENTO2 <i>S m</i>	MACHO	159,7	181,6
	MACHO	-	179,5
GRUPO TRATAMIENTO3 <i>T f</i>	MACHO	161,3	183,1
	MACHO	-	179,6

CUADRO N° 11. MEDIAS DE LOS VALORES DE PESO DE RATAS EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

GRUPO	Media Peso Inicial (g)	Media Peso Final (g)
BLANCO	277,1	302
CONTROL POSITIVO	210,35	244,8
CONTROL NEGATIVO	246,9	287,3
TRATAMIENTO 1 <i>D o</i>	201,3	220,35
TRATAMIENTO 2 <i>S m</i>	159,7	180,55
TRATAMIENTO 3 <i>T f</i>	161,3	181,35

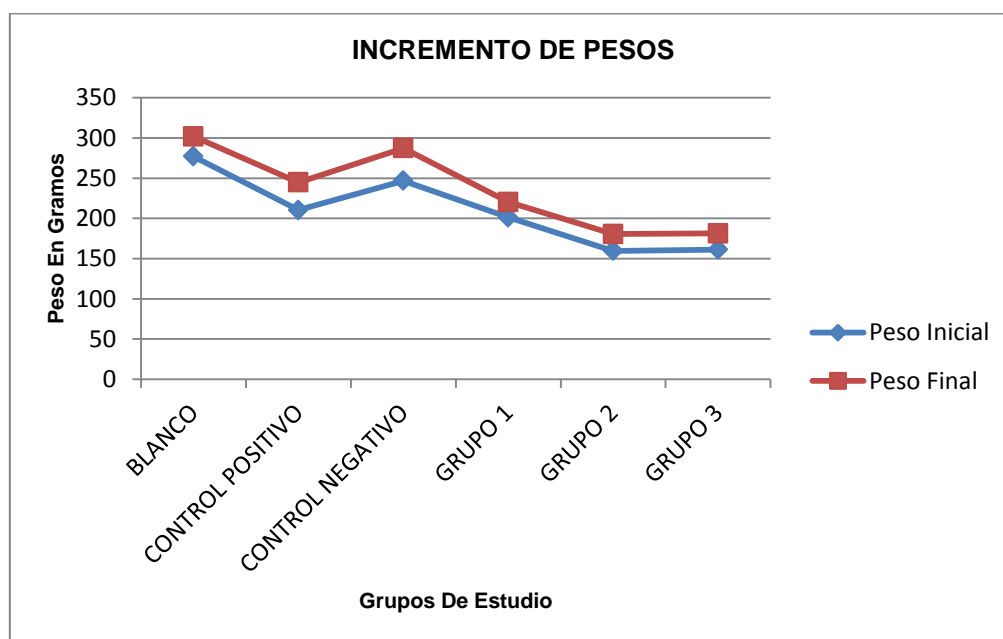


GRÁFICO N°2. AUMENTO DE PESO EN GRAMOS DURANTE LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

El gráfico N° 2 nos indica un considerable incremento de peso en los animales de experimentación pertenecientes al grupo control negativo; los cuales recibieron la misma administración de solución de glucosa al 60% que el resto de grupos.

De igual forma en los demás grupos de estudio se puede ver que el peso tiende a un aumento mínimo, lo cual se debe al metabolismo de cada animal y a su adaptación al medio en el que se encontraban de acuerdo al tratamiento.

CUADRO N° 12. VALORES DESCRIPTIVOS DEL PESO FINAL EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BLANCO	2	302.0000	45.67910	32.30000	-108.4104	712.4104
CONT. POSIT.	2	244.8000	21.35462	15.10000	52.9363	436.6637
CONT. NEG.	2	287.3000	5.51543	3.90000	237.7458	336.8542
TRAT. 1	2	220.3500	8.55599	6.05000	143.4775	297.2225
TRAT. 2	2	180.5500	1.48492	1.05000	167.2085	193.8915
TRAT. 3	2	181.3500	2.47487	1.75000	159.1141	203.5859
Total	12	236.0583	51.69603	14.92336	203.2122	268.9044

En el cuadro N°12 se indica que la media de los pesos de todos los animales estuvieron dentro de los rangos normales según el sexo (macho: 250-400 g y hembra: 220-300 g), lo cual nos indica que los animales de experimentación se encontraban sanos. Cabe mencionar que los pesos del grupo Tratamiento 2 y 3 son un poco inferiores a los normales ya que su edad es menor a la del resto de grupos (8 semanas).

**CUADRO N° 13. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA MEDICIÓN DE PESOS
FINALES EN LA INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA.**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	26742,71417	5	5348,542833	12,08912869	0,004350078	4,387374187
Dentro de los grupos	2654,555	6	442,4258333			
Total	29397,26917	11				

El valor obtenido de F nos indica que es mayor a su valor crítico, lo que señala que el peso final en la inducción de hiperglucemia en los grupos de estudio tuvo un incremento significativo, pero que no se lo puede considerar netamente como un síntoma patológico propio de la Diabetes; ya que ésta variación depende del metabolismo de cada animal de experimentación.

**CUADRO N° 14. COMPARACIONES MÚLTIPLES DE PESOS EN LA
INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA CONHSD de Tukey.**

(I) Trat	(J) Trat	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BLANCO (1.00)	2.00	57.20000	21.03392	.201	-26.5118	140.9118
	3.00	14.70000	21.03392	.975	-69.0118	98.4118
	4.00	81.65000	21.03392	.055	-2.0618	165.3618
	5.00	121.45000 [*]	21.03392	.009	37.7382	205.1618
	6.00	120.65000 [*]	21.03392	.009	36.9382	204.3618

CONTROL POSITIVO (2.00)	1.00	-57.20000	21.03392	.201	-140.9118	26.5118
	3.00	-42.50000	21.03392	.425	-126.2118	41.2118
	4.00	24.45000	21.03392	.840	-59.2618	108.1618
	5.00	64.25000	21.03392	.138	-19.4618	147.9618
	6.00	63.45000	21.03392	.144	-20.2618	147.1618
CONTROL NEGATIVO (3.00)	1.00	-14.70000	21.03392	.975	-98.4118	69.0118
	2.00	42.50000	21.03392	.425	-41.2118	126.2118
	4.00	66.95000	21.03392	.119	-16.7618	150.6618
	5.00	106.75000 ⁺	21.03392	.017	23.0382	190.4618
	6.00	105.95000 ⁺	21.03392	.017	22.2382	189.6618
TRATAMIENTO 1 (4.00)	1.00	-81.65000	21.03392	.055	-165.3618	2.0618
	2.00	-24.45000	21.03392	.840	-108.1618	59.2618
	3.00	-66.95000	21.03392	.119	-150.6618	16.7618
	5.00	39.80000	21.03392	.483	-43.9118	123.5118
	6.00	39.00000	21.03392	.500	-44.7118	122.7118
TRATAMIENTO 2 (5.00)	1.00	-121.45000 ⁺	21.03392	.009	-205.1618	-37.7382
	2.00	-64.25000	21.03392	.138	-147.9618	19.4618
	3.00	-106.75000 ⁺	21.03392	.017	-190.4618	-23.0382
	4.00	-39.80000	21.03392	.483	-123.5118	43.9118
	6.00	-.80000	21.03392	1.000	-84.5118	82.9118
TRATAMIENT O 3 (6.00)	1.00	-120.65000 ⁺	21.03392	.009	-204.3618	-36.9382
	2.00	-63.45000	21.03392	.144	-147.1618	20.2618

3.00	-105.95000*	21.03392	.017	-189.6618	-22.2382
4.00	-39.00000	21.03392	.500	-122.7118	44.7118
5.00	.80000	21.03392	1.000	-82.9118	84.5118

Trat	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TRAT. 2	2	180.5500	
TRAT. 3	2	181.3500	
TRAT. 1	2	220.3500	220.3500
CONT. POSIT.	2	244.8000	244.8000
CONT. NEG.	2		287.3000
BLANCO	2		302.0000
Sig.		.138	.055

De acuerdo a los resultados obtenidos con el Método Tukey, podemos decir que el tratamiento 1, 2 y 3 tienen el mismo comportamiento que el grupo control Positivo en cuanto al incremento de pesos finales.

Pero es importante indicar que la variable peso, no es relevante al momento de realizar la investigación ya que los pesos van en función de edades y del estado fisiológico en el que se encuentren cada uno de los animales de experimentación (*Rattusnorvegicus*).

3.5. ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO

3.5.1. Determinación de glucosa en sangre en mg/dl en animales de experimentación durante la administración de los extractos.

CUADRO N° 15. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO CONTROL POSITIVO.

GRUPO CONTROL POSITIVO					
SEXO					
MEDICIONES REALIZADAS		HEMBRA		HEMBRA	
		1	2		
		GLUCOSA (mg/dl)			\bar{X} de Glucosa (mg/dl)
TRATAMIENTO	1° toma	Inicial	101	103	102
	2° toma	30 minutos	152	169	160,5
	3° toma	60 minutos	148	145	146,5
	4° toma	90 minutos	136	117	126,5
	5° toma	180 minutos	116	88	102
	6° toma	210 minutos	112	98	105
	7° toma	240 minutos	115	96	105,5
	8° toma	300 minutos	98	78	88

CUADRO N° 16. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO.

GRUPO CONTROL NEGATIVO					
SEXO					
MEDICIONES REALIZADAS		MACHO		MACHO	
		1	2		
		GLUCOSA (mg/dl)			\bar{X} de Glucosa (mg/dl)
TRATAMIENTO	1° toma	Inicial	92	88	90
	2° toma	30 minutos	111	130	120,5
	3° toma	60 minutos	141	127	134
	4° toma	90 minutos	119	133	126
	5° toma	180 minutos	111	102	106,5
	6° toma	210 minutos	108	118	113
	7° toma	240 minutos	100	88	94
	8° toma	300 minutos	81	77	79

CUADRO N° 17. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO BLANCO.

GRUPO BLANCO					
SEXO					
MEDICIONES REALIZADAS		MACHO		HEMBRA	
		GLUCOSA (mg/dl)		\bar{X} de Glucosa (mg/dl)	
*TRATAMIENTO	1° toma	Inicial	63	63	63
	2° toma	30 minutos	61	61	61
	3° toma	60 minutos	59	65	62
	4° toma	90 minutos	59	67	63
	5° toma	180 minutos	57	68	63
	6° toma	210 minutos	59	66	62,5
	7° toma	240 minutos	60	51	55,5
	8° toma	300 minutos	60	54	57

* Al grupo blanco no se le administró ningún tratamiento porque no se le indujo la hiperglucemia pero se usa ésta denominación por razones técnicas de comparación con los demás grupos de estudio.

CUADRO N° 18. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO TRATAMIENTO 1(D o).

GRUPO TRATAMIENTO 1 (D o)					
SEXO					
MEDICIONES REALIZADAS		MACHO		MACHO	
		1		2	
		GLUCOSA (mg/dl)			\bar{X} de Glucosa (mg/dl)
TRATAMIENTO	1° toma	Inicial	115	96	106,5
	2° toma	30 minutos	153	136	144,5
	3° toma	60 minutos	139	120	129,5
	4° toma	90 minutos	155	140	147,5
	5° toma	180 minutos	99	100	99,5
	6° toma	210 minutos	99	95	97
	7° toma	240 minutos	94	89	91,5
	8° toma	300 minutos	82	76	79

CUADRO N° 19. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO TRATAMIENTO 2(S m).

GRUPO TRATAMIENTO 2 (S m)					
SEXO					
MEDICIONES REALIZADAS		MACHO	MACHO		
		1	2		
GLUCOSA (mg/dl)				\bar{X} de Glucosa (mg/dl)	
TRATAMIENTO	1° toma	Inicial	78	86	82
	2° toma	30 minutos	133	110	121,5
	3° toma	60 minutos	121	105	113
	4° toma	90 minutos	110	98	104
	5° toma	180 minutos	114	102	108
	6° toma	210 minutos	118	106	112
	7° toma	240 minutos	105	99	102
	8° toma	300 minutos	109	101	105

CUADRO N° 20. VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DE RATAS DEL GRUPO TRATAMIENTO 3 (T f).

GRUPO TRATAMIENTO 3 (T f)					
SEXO					
MEDICIONES REALIZADAS		MACHO	MACHO		
		1	2		
GLUCOSA (mg/dl)				\bar{X} de Glucosa (mg/dl)	
TRATAMIENTO	1° toma	Inicial	118	120	119
	2° toma	30 minutos	147	136	141,5
	3° toma	60 minutos	159	142	150,5
	4° toma	90 minutos	114	115	114,5
	5° toma	180 minutos	145	147	146
	6° toma	210 minutos	149	147	148
	7° toma	240 minutos	151	150	150,5
	8° toma	300 minutos	100	110	105

3.5.2. COMPARACIÓN DE GLUCEMIAS ENTRE GRUPOS DE ESTUDIO

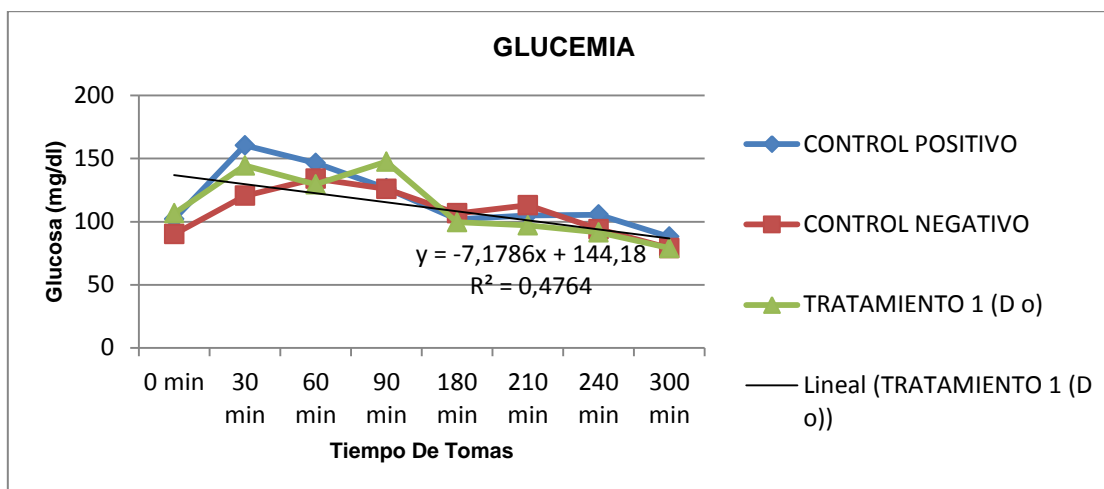


GRÁFICO N°3: GLUCEMIA EN (mg/dl) DEL GRUPO CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 1.

Los datos expresados en la gráfica N°3 indican que los valores del tratamiento 1 (*Drymariaovata*) sufren un efecto tipo ola hasta los 180 minutos en donde disminuye considerablemente hasta los 300 minutos donde se tiene 79 mg/dl de glucemia, esto se lo relaciona con los valores de control positivo (Solución de glucosa al 60%) que son ligeramente mayores a los del tratamiento

De igual forma los del control negativo (Metformina Clorhidrato) al inicio son menores que los del tratamiento y al final a partir de los 180 minutos se observa que son similares al tratamiento 1 (*Drymariaovata*). Mediante el cálculo de la pendiente se tiene el valor de $y = -658,925875$ y $R^2 = 0.4764$, éste último nos indica que existe un desgaste moderado de glucosa en los animales de experimentación (*Rattus norvegicus*).

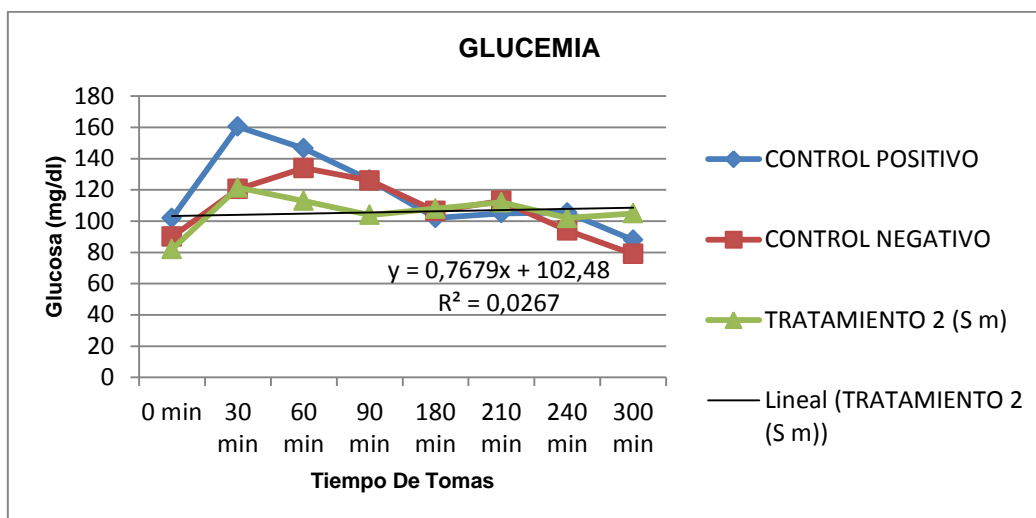


GRÁFICO N°4: GLUCEMIA EN (mg/dl) DEL GRUPO CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 2.

La gráfica indica que los valores del control positivo (Solución de glucosa al 60%) se incrementan a los 30 minutos y posterior a esto decrecen a 88 mg/dl a los 300 minutos, de igual forma el control negativo (Metformina Clorhidrato) tiende a elevar sus valores a 134 mg/dl en los 30 minutos y posterior a esto decrece hasta 79 mg/dl a los 300 minutos; en cambio el tratamiento 2 (*Sennamacrophylla*) sufren un efecto tipo ola en donde se producen ligeros aumentos a los 30 minutos con 121,5 mg/dl de glucosa y disminuciones de la misma a partir de éste tiempo hasta alcanzar los 105 mg/dl de glucemia en los 300 minutos; por lo que se considera que éste tratamiento es el que mejores resultados presenta en cuanto a la actividad hipoglucemiante.

Mediante el cálculo de la pendiente se tiene el valor de $y = 183,8294063$ y $R^2 = 0.267$, éste último valor nos indica que existe un desgaste elevado de la glucemia en los animales de experimentación (*Rattusnorvegicus*).

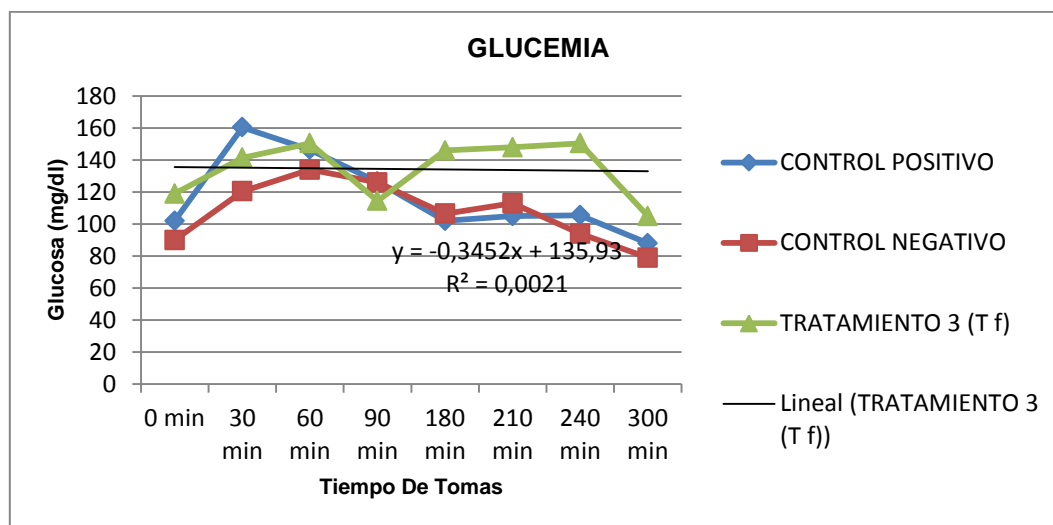


GRÁFICO N°5: GLUCEMIA EN (mg/dl) DEL GRUPO CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO Y TRATAMIENTO 3.

Los resultados señalan que el tratamiento 3 (*TagetesfilifoliaLag.*) si presenta actividad hipoglucemiante pero sólo hasta los 90 minutos que presenta 114,5 mg/dl, ya que desde los 180 minutos sus valores tienden a incrementarse considerablemente hasta 105 mg/dl, llegando incluso a sobrepasar los niveles del grupo control positivo que fue de 88 mg/dl y del grupo control negativo y a los 300 minutos se da un decrecimiento que es similar a los grupos de control.

Mediante el cálculo de la pendiente se tiene el valor de $y = 89,54375$ y $R^2 = 0.0021$, éste último valor nos indica que existe un desgaste elevado de la glucosa en los animales de experimentación (*Rattusnorvegicus*).

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Los extractos etanólicos de *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla* y *Tagetesfilifolia*Lag. administrados por vía oral a ratas inducidas la hiperglicemia dieron efecto hipoglucemiante con Anova 0,16; 0,06 y 7,98 comprobando que la hipótesis planteada es positiva.
2. Las muestras botánicas identificadas en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo corresponden a los vegetales mencionados anteriormente.
3. El análisis "in vivo" en *Rattusnorvegicus* inducidas con solución de glucosa al 60% tienen promedio 160,5 mg/dl, el extracto etanólico de *Sennamacrophyllay Tagetesfilifolia*Lag.en los 300 minutos baja a 105 mg/dl; *Drymariaovatabaja* a 79 mg/dl; comprobándose que la hipótesis es positiva.
4. El extracto de *Drymariaovata*, es un líquido turbio, pegajoso, de olor dulce, amarillo y sabor picante, pH ácido 5.05, la densidad es 1,114 g/ml e índice de refracción 1,354 superior a la del agua.

Según las reacciones de tamizaje fitoquímico éste vegetal contiene saponinas, taninos, flavonoides, quinonas, lactonas (cumarinas); siendo su marcador químico los fenoles.

Se inicia con 144,5 mg/dl de glucemia inducida, se administró 2,1 ml del extracto con las características antes indicadas y a los 300 minutos baja a 79 mg/dl con relación al control positivo que en el mismo tiempo inició con 160,5 mg/dl y finalizó con 88 mg/dl.

Según el test ANOVA con un nivel de significancia del 0.05 se obtuvo como resultados una probabilidad de 0.6921, un valor de F de 0.1625 y su valor crítico para F es de 4.4939.

5. El extracto etanólico de *Sennamacrophylla*, es un líquido turbio, pegajoso, de olor dulce, café claro y sabor dulce, pH ácido 5.10, la densidad es 1,079 g/ml e índice de refracción 1,357 superior a la del agua.

Según las determinaciones por coloración se concluye que contiene saponinas del tipo esteroidal y triterpénicas, flavonoides, quinonas; teniendo como marcador químico a las saponinas.

Se inicia con 121,5 mg/dl de glucemia inducida, se administró 2,2 ml de la sustancia en estudio con las características antes indicadas y a los 300 minutos baja a 105 mg/dl con relación al control positivo que en el mismo tiempo inició con 160,5 mg/dl y finalizó con 88 mg/dl.

Según el test ANOVA con un nivel de significancia del 0.05 se obtuvo como resultados una probabilidad de 0.8092, un valor de F de 0.0605 y su valor crítico para F es de 4.6001.

6. *Tagetesfilifolia* Lag., es un líquido turbio, de olor dulce, amarillo-rojizo y sabor amargo, pH ácido 3.88, la densidad es 1,194 g/ml e índice de refracción 1,381 superior a la del agua.

Los resultados del tamizaje fitoquímico indican que contiene chalconas, flavonoides, quinonas, lactonas (cumarinas), flavonas, aceites esenciales; siendo este último el marcador químico.

Se inicia con 141,5 mg/dl de glucemia inducida, se administró 2,1 ml de la sustancia del vegetal en análisis y a los 300 minutos bajó a 105 mg/dl con relación al control positivo que en el mismo tiempo inició con 160,5 mg/dl y finalizó con 88 mg/dl.

Según el test ANOVA con un nivel de significancia del 0.05 se obtuvo como resultados una probabilidad de 0.0135, un valor de F de 7.9764 y su valor crítico para F es de 4.6001.

7. De acuerdo a los resultados obtenidos, el mejor extracto se puede decir que es el de *Sennamacrophyllaya* que reduce los niveles de glucosa desde 121,5 mg/dl a los 30 minutos hasta 105 mg/dl de glucemia los 300 minutos.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Realizar otros estudios ya que se trata de vegetales con muy poca información, debido a que en el país no se han realizado experimentos con estos, y podrían presentar otro tipo de actividad.
2. Realizar estudios para determinar qué principio activo otorga la propiedad del efecto hipoglucemiante encontrado, y hacer una valoración cuantitativa de cada principio en cada uno de los vegetales en estudio.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Comprobación del efecto hipoglucemiante del extracto de *Drymariaovata*, *Sennamacrophylla*, *Tagetesfilifolia*Lag., en ratas con hiperglucemia inducida. Preparar extractos de los vegetales, inducir diabetes en ratas, administrar los extractos a los diferentes grupos de *Rattusnorvegicus*, realizar el análisis estadístico con el test de ANOVA y el método de TUKEY.

Esta investigación se la realizó utilizando la metodología de la experimentación al ver un gran índice de morbi-mortalidad a nivel mundial por la diabetes; éste estudio científico tiene como finalidad reducir dichos índices y así poder mejorar la calidad de vida de los pacientes que sufren dicha patología; para lo cual se utilizaron doce ratas divididas en seis grupos duplicados representando a los grupos: blanco, positivo, negativo, tratamientos (*D o*), (*S m*) y (*T f*); en los cuales se pudo observar que tras la administración de los diferentes extractos, los índices de glucemia se redujeron en un alto nivel.

Los resultados señalaron que el Blanco presentó glucemias normales porque no se le indujo la patología, mediante administración por descarga oral de glucosa en concentración al 60% de 10 ml/kg de peso al día; el Negativo poseía la patología, la glucemia disminuyó a 79 mg/dl a los 300 minutos. El Positivo fue administrado

con Metformina Clorhidrato estabilizando su glucemia a partir de los 300 minutos de su administración llegando a 88 mg/dl.

Se concluyó que las dosis de los extractos, presentaron efecto hipoglucemiante siendo el de mayor eficacia el de *Sennamacrophylla* ya que sus valores son más estables en relación de los otros, teniendo a los 300 minutos una glucemia de 105 mg/dl.

Se recomienda realizar otros estudios ya que se trata de vegetales con muy poca información.

ABSTRACT

The topic of this research work is: "Hypoglycemic effect testing of *the Drymariaovata, Sennamacrophylla, Tagetesfilifolia* Lag.extract, in rats with induced hyperglycemia." The main goals are: to prepare vegetable extracts, to induce diabetes in rats administered extracts to different groups of *Rattusnorvegicus*, to carry out statistical analysis with ANOVA and TUKEY method.

It was used the experimentation methodology for this investigation because there is a high rate of morbidity and mortality worldwide by diabetes; the purpose of this scientific study is to reduce these rates and thus improve the quality of life of patients suffering this pathology; for which twelve rats were used divided into six duplicate groups, it was representing to the groups: white, positive, negative, treatments (*D o*), (*S m*) and (*T f*); in which it was observed that after administration of the different extracts, the glycemic rate is reduce in a high rate.

It was concluded that dose of the extracts showed hypoglycemic effect being the more effective the *Sennamacrophylla* because its values are more stable in relation to the other, having at the 300 minutes a glycemia of 105 mg/dl.

The results indicated that the white presented normal glucose rate: because it was not induced pathology, through oral administration of glucose concentration to 60% of 10 ml/kl by weight day; negative possessed the pathology, the blood glucose decreased to 79 mg/dl to 300 minutes. The positive Metformin Hydrochloride was administered to stabilize the glycemia from 300 minutes of administration reaching 88 mg/dl.

Further studies are recommended since it is vegetable with a little information.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1. ÁVILA, J Y OTROS.**, Salud ecológica., 2da. ed., Maracaibo – Venezuela., [s.edt.], 2010., pp. 147 – 148.
- 2. DOMÍNGUEZ, X.**, Métodos de investigación fitoquímica., 1ra. ed., México D.F. México., Editorial Limusa., 1973., pp. 15-36.
- 3. ESCOBAR, E.**, Presentación de yotoco "reserva natural", Colombia -Litotamara. [s.edt.], 2001., p. 129.
- 4. FERNÁNDEZ, G.**, Educa la salud con la medicina tradicional y natural., Estados Unidos., [s.edt.], 2012., pp. 21 - 23.
- 5. G. D. HISCOX - A. A. OPKINS.**, Recetario industrial., 2da. ed., Barcelona – España., [s.edt.], [s.f.], p. 18.

6. **HOFFMAN, P.**, Herbolaria y nutrición natural., 1ra. ed., México D. F. - México., Editorial Pax México., 2005., pp. 65-66.
7. **KOOLMAN Y OTROS.**, Bioquímica., 3ra. ed., Madrid – España., Editorial medica PANAMERICANA., 2004., pp. 160-161.
8. **LANDIVAR, J Y OTROS.**, Historia de la medicina., Cuenca - Ecuador.,[s.edt.], 2004., p. 40.
9. **LEZAETA, M.**, Medicina natural al alcance de todos., 2da. ed., México D. F. – México., Editorial Pax México.,1997., pp. 18, 28.
10. **MENDOZA, N.**, Farmacología Médica., [s.ed.], México D. F. - México., Editorial médica PANAMERICANA., 2008., pp. 138.
11. **MORENO, S.**, Antropología del ecuador., [s.L.], [s.edt.], [s.f.], p. 496.
12. **MUJICA, X.**, Hierbas que curan., [s.L.], Ediciones Lea., [s.edt.], [s.f.], pp. 13, 34.
13. **ORTUÑO, M.**, Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes., 1ra. ed., España., Ediciones AIYANA., 2006., pp. 223 - 224.

- 14. PAMPLONA, J.**, Salud por las plantas medicinales., 1ra. ed., Madrid – España., Editorial safeliz., 2006., p. 36.
- 15. SERRANO, V.**, Ciencia andina., 2da. ed., Quito - Ecuador., [s.edt.], [s.f.], pp. 224, 244.
- 16. SHARAPIN, N.**, Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos., 1ra. ed., Santafé de Bogotá – Colombia., Quebecor – Impreandes., 2000., p. 198.
- 17. VANACLOCHA, B.**, Fitoterapia - vademécum de prescripción., 4ta. ed., Barcelona - España., 2003., p. 29.
- 18. VARGAS, W.**, Guía ilustrada de las plantas de las montañas del quindío y los andes centrales., 1ra. ed., Manizales – Colombia., Editorial Universidad de Caldas., 2002., p.364.
- 19. VARRO, E Y OTROS.**, Farmacognosia., 2da. ed., Buenos Aires - Argentina., Ed. "El Ateneo"., 1979., pp. 34, 74-82, 190-200.

BIBLIOGRAFÍA INTERNET

20. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>

2013/04/07

21. ASESORÍA BIOMÉDICA/ BIOQUÍMICA CLÍNICA.

<http://www.bioacademia.com.mx/miembros/asesoriabiomedica/bioquimicacliclinica/0006.html>

2013/02/07

22. BIOLOGÍA GENERAL DEL REACTIVO BIOLÓGICO.

<http://es.scribd.com/doc/86832705/manejo-de-animales>

2013/02/07

23. BIENESTAR FARMACOGNÓSTICO Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA VIOLETILLA (*HYBANTHUS PARVIFLORUS*).

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/207/1/56T00179.pdf>

2013/04/07

24. COMPROBACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL ZUMO DEL FRUTO DEL NONI (*MORINDA CITRIFOLIA*) EN RATAS (*RATTUS NORVEGICUS*) CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA.

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1591/1/56T00279.pdf>

2013/02/07

25. DEFINICIÓN Y TRATAMIENTO DE DIABETES EN EL IESE, ECUADOR.

http://www.cegisutalca.cl/docs/publicaciones/FACE_ESGS_3_6.pdf

2013/02/07

26. DIABETES MELLITUS.

<http://www.geocities.com/amirhali/fpclass/DIABETES.htm>

2013/02/07

27. DRYMARIA

<http://es.wikipedia.org/wiki/Drymaria>

2013/03/05

28. DRYMARIA OVATA

<http://datos.sndb.mincyt.gob.ar/portal/species/browse/taxon/7950562/>

2013/03/05

29. EXTRACCIÓN DE SANGRE EN LOS MAMÍFEROS Y AVES DE LABORATORIO.

http://www.fcv.unl.edu.ar/media/institucional/comite_etica_seguridad/documentos/ExtracciondeSangreenlosMamiferosyAves.pdf

2013/02/07

30. EXTRACTOS ALCOHÓLICOS

<http://www.laboratorio.takiwasi.org/esp/extract.php>

2013/04/07

31. FASES CLÍNICA

<http://web.udl.es/Biomath/Bioestadistica/Dossiers/Articles/1/Ensayo%20cl%C3%ADnico%20Reacciones%20adversas.pdf>

2013/04/30

32. FASE DE ESTUDIOS

<http://www.cslbehring.com.mx/csl-investigacion-y-desarrollo/estudios-clinicos/fases-de-estudio.htm>

2013/042/30

33. GUÍA DE MANEJO Y CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO.

http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf

2013/02/07

34. GLUCÓLISIS

<http://www.almeriastella.es/imagenes/noticias/documentos/656.pdf>

2013/052/01

35. HIPERGLUCEMIA.

http://www.greenhosp.org/upload/docs/FactSheets/Spanish/diabetes_hyperglycemia.pdf

2013/02/07

36. MANUAL DE DIABETES Y ENFERMEDADES METABÓLICAS.

<http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/IntegradoTercero/ApFisiopSist/nutricion/NutricionPDF/DiabetesMellitus.pdf>

2013/02/07

37. NUTRICIÓN Y DIETÉTICA EN DIABÉTICOS.

http://www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-l/guia/enfermedades/diabetes/manual_produccion_de_ins.htm

2013/02/07

38. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.

<http://www.telegrafo.com.ec/noticias/sociedad/item/oms-en-ecuador-hay-500-mil-enfermos-de-diabetes.html>

2013/02/07

39. PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES ECUATORIANOS

<http://ibcperu.org/doc/isis/14185.pdf>

2013/03/05

40. PREVALENCIA DE DIABETES EN ECUADOR.

<http://www.telegrafo.com.ec/noticias/sociedad/item/oms-en-ecuador-hay-500-mil-enfermos-de-diabetes.html>

2013/02/07

41. PROTOCOLO DIAGNÓSTICO DE LA HIPERGLUCEMIA.

<http://es.scribd.com/doc/70020785/02-042-Protocolo-diagnostico-de-la-hiperglucemia>

2013/02/07

42. REFINANDO LOS PROCEDIMIENTOS PARA LA ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS.

http://www.fcv.unl.edu.ar/media/institucional/comite_etica_seguridad/documentos/Refinandolosprocedimientosparaadministracion20de20sustancias.pdf

2013/02/07

43. SENNA MACROPHYLLA

<http://www.biovirtual.unal.edu.co/ICN/?controlador=ShowObject&accion=show&id=79170>

2013/03/05

44. SUSTANCIAS HIPOGLUCEMIANTES YA CONOCIDAS

http://www.colfarnn.org.ar/biblio/biblio_archivos/TECNICAS%20COMPROBACION%20ACTIVIDAD%20BIOLOGICA.pdf

2013/04/07

45. TAGETES FILIFOLIA

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7279>

2013/03/05

46. TAGETES FILIFOLIA

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-filifolia/fichas/ficha.htm#1>.

2013/03/05

47. TÉCNICAS DE COMPROBACIÓN DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

[http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/comprobacion de la actividad terapeutica de las plantas.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/comprobacion_de_la_actividad_terapeutica_de_las_plantas.pdf)

2013/04/30

48. TÉCNICAS DE INOCULACIÓN, SANGRÍA DE ANIMALES, OBTENCIÓN DE ANTÍGENOS BACTERIANOS Y PREPARACIÓN DE ANTISUEROS.

<http://es.scribd.com/doc/3288391/TECNICAS-DE-INOCULACION-Y-SANGRIA-DE-ANIMALES>
2013/02/07

49. TRATAMIENTO DIABETES.

<http://geosalud.com/diabetesmellitus/diabetestratamiento.htm>
2013/02/07

50. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO PARA LA DIABETES MELLITUS.

<http://www.medigraphic.com/pdfs/h-gea/gg-2002/gg021-2d.pdf>
2013/02/07

51. TRATAMIENTO PARA LA DIABETES

http://api.ning.com/files/aj8l9nQitOcoAy*UOVHWQQjZWYkxUIId*ejR9rz9sGSfoxp609W9Cgtz3hFzwLDmRsneKuseDtEX4symSmuwa0LHX3tkA6ML0/04RevistaDiabeteseldulceplacerdelavida.pdf
2013/02/07

52. UNIVERSIDAD DE COSTA RICA LEBi.

http://lebi.ucr.ac.cr/index.php?option=com_content&view=article&id=43&Itemid=44
2013/02/07

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS



FOTOGRAFÍAS N° 1 Y 2: RECOLECCIÓN DE LOS VEGETALES



FOTOGRAFÍA N° 3: MACERACIÓN DE LOS VEGETALES



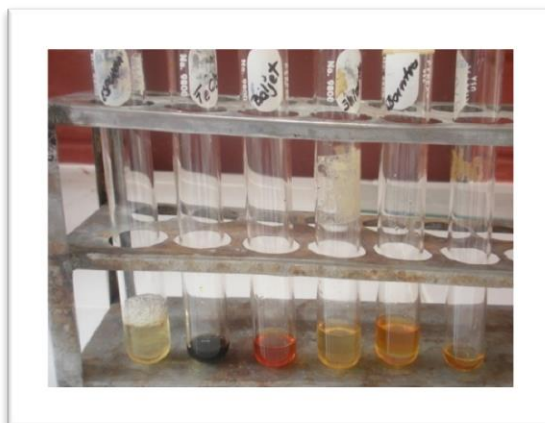
FOTOGRAFÍAS N° 4 Y 5: OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS



FOTOGRAFÍAS N° 6, 7 Y 8: ENSAYO DE ESPUMA, CLORURO FÉRRICO Y BALJET DEL VEGETAL *Drymariaovata*



FOTOGRAFÍAS N° 9, 10 Y 11: ENSAYO DE SUDAN III Y SHINODA DEL VEGETAL *Drymariaovata*



FOTOGRAFÍA N° 12: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL VEGETAL *Drymariaovata*



FOTOGRAFÍA N° 13: ACONDICIONAMIENTO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EN EL ÁREA DE CUARENTENA



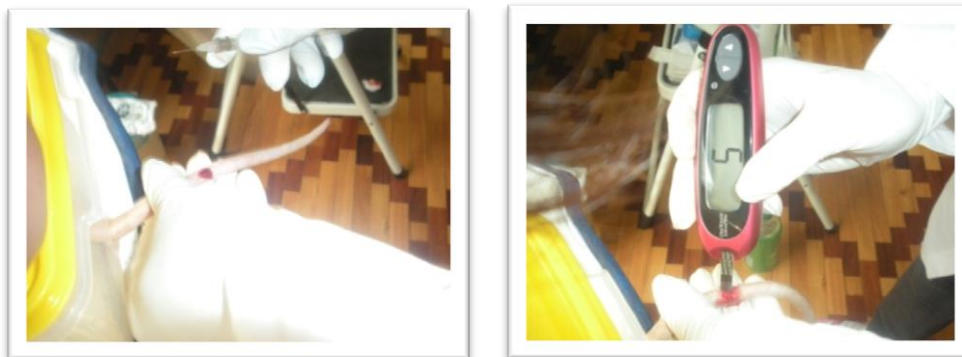
FOTOGRAFÍA N° 14: MATERIALES A UTILIZAR EN EL EXPERIMENTO



FOTOGRAFÍA N° 15: PREPARACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE METFORMINA CLORHIDRATO Y SOLUCIÓN DE GLUCOSA AL 60%



FOTOGRAFÍA N° 16: TOMA DE PESOS DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



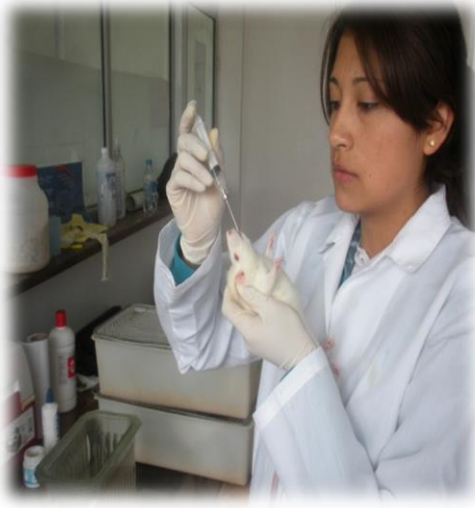
FOTOGRAFÍAS N° 17 Y 18: TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE DE LA COLA DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



FOTOGRAFÍA N° 19: MEDIDOR DE GLUCEMIA ONETOUCH DE ROCHE



FOTOGRAFÍA N° 20: INMOVILIZACIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN PARA LA POSTERIOR ADMINISTRACIÓN DE GLUCOSA AL 60% Y DE LOS TRATAMIENTOS



FOTOGRAFÍA N° 21: ADMINISTRACIÓN VÍA ORAL DEL TRATAMIENTO